

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Zur Prävalenz von kardiovaskulären Risikofaktoren bei MS-Patienten und
deren Auswirkung auf den Krankheitsprogress

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von
Hasan Arda Civelek
aus Istanbul

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand (komm.): Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 19. März 2025

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VII
1. Einleitung zum Thema und Ziel der Dissertation	1
2. Literaturdiskussion und Einführung in die Grundlagen der Multiplen Sklerose	3
2.1. Geschichte einer „Erkrankung der tausend Gesichter“	3
2.2. Ätiologie und Pathophysiologie der Erkrankung	4
2.2.1. Genetische Faktoren	4
2.2.2. Umweltfaktoren mit Fokus auf die Beziehung zwischen MS und Epstein-Barr-Virus (EBV)	5
2.2.3. Entwicklung von MS aus immunpathologischer Sicht	6
2.3. Vereinheitlichung der Diagnosekriterien und klinische Verlaufsformen der Erkrankung	9
2.4. Paradigmenwechsel mit Hinblick auf die Behinderungsprogression: PIRA	11
2.5. Kardiovaskuläre Komorbiditäten in MS	14
2.6. Wie beeinflussen die schädlichen Faktoren die Progression der Erkrankung?	17
3. Material und Methoden	19
3.1. Retrospektive Analyse einer multizentrischen Patientenkohorte	19
3.2. Statistische Analyse	20
3.3. Charakterisierung des individuellen kardiovaskulären Risikos: Framingham-Herz-Studie	20
3.4. PIRA als primäre Endpunkt und mögliche Substrat kardiovaskulärbedingten Krankheitsprogression	23
4. Ergebnisse	24
4.1. Basischarakteristika der Kohorte	24
4.2. Radiologische Charakteristika der Kohorte bei Baseline sowie Follow-Ups	25
4.3. Klassifizierung der Kohorte anhand klinisch- und biochemischen Markers während des Follow-Ups	28

4.4.	Multivariable Analyse: FRS als prognostischen Marker für den klinischen Endpunkt „PIRA“ als Substrate für die kardiovaskulärbedingte Krankheitsprogression in MS	30
4.5.	Univariate Analyse der Kohorte mit jährlicher Schubrate als klinischer Endpunkt	32
4.6.	ROC-Analyse: Kardiovaskuläres Risikoprofil als Vorhersagemerkmal von PIRA und sein Effekt in geschlechtsspezifischer Gegenüberstellung	33
4.7.	FRS als Tool zur Patientenstratifizierung hins. des Risikos für die Entwicklung von PIRA	34
4.8.	Kohortenanalyse anhand unterschiedlicher FRS-Cut-off-Werte mit Hirnatrophie als klinischen Endpunkt	35
5.	Diskussion	37
6.	Zusammenfassung	48
	Literaturverzeichnis	VIII
	Anhang	

Abkürzungsverzeichnis

ApoA-1:	Apolipoprotein A-1
ARR:	Annualized relapse rate
AUC:	Area under the curve
BHS:	Blut-Hirn-Schranke
BMI:	Body-Mass-Index
BTK:	Bruton-Tyrosine-Kinase
CAM:	Endotheliale Zelladhäsionsmolekül
CD:	Cluster of Differentiation
CDP:	Confirmed disability progression
CHI3L1:	Chitinase-3-like protein 1
CI:	Confidence Interval
CIS:	Klinisch isoliertes Syndrom
cSVD:	Cerebral small vessel disease
CVN:	Central vein sign
DMT:	Disease modifying therapy (verlaufsmodifizierende Therapie)
EAE:	Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
EBNA1:	EBV nuklear Antigen
EBV:	Epstein-Barr-Virus
EDSS:	Expanded Disability Status Scale
ESC/ESH:	European Society of Cardiology/European Society of Hypertensiology
FRS:	Framingham Risk Score
FU:	Follow-up
GA:	Glatirameracetat
Gd:	Gadolinium
GWAS:	Genome-wide association study
HDL:	High Density Lipoprotein
HERV-W:	Human-endogener Retrovirus Typ-W
HLA:	Human Leukocyte Antigen
IMGSC:	International Multiple Sclerosis Genetics Consortium
IFN- β -1a:	Interferon Beta-1a
Ig:	Immunglobuline
IQR:	Interquartile range (Interquartilsabstand)

KHK:	Koronare Herzerkrankung
κ-FLC:	Kappa-Leichtketten
LDL:	Low Density Lipoprotein
MHC:	Major histocompatibility complex
MRT:	Magnetresonanztomografie
MS:	Multiple Sklerose
MRS:	Modifizierter Rio Score
NAGM:	Normal appearing gray matter
NAWM:	Normal appearing white matter
NBV:	Normalized brain volume
NO.MS:	Novartis-MS
OKB:	Oligoklonale Banden
ON:	Optikusneuritis
OR:	Odds Ratio
PIRA:	Progression independent of relapse activity
PPMS:	Primär progressive multiple Sklerose
PVS:	Perivascular space
RAW:	Relapse-associated worsening
RIS:	Radiologisch isoliertes Syndrom
ROC:	Receiver Operating Characteristic
RS:	Rio Score
RRMS:	Schubförmig-remittierende multiple Sklerose
sNFL:	Neurofilamentleichtketten
SPMS:	Sekundär-progrediente multiple Sklerose
TLS:	Tertiary lymphoid-like structure
VCAP18:	Virus-Kapsid-Antigen p18 vom EBV
VRF:	Vaskulärer Risikofaktor
ZNS:	Zentrales Nervensystem

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zu vergebende, geschlechtsspezifische Punkte je nach Alter und kardiovaskulärem Risikofaktor (adaptiert aus Framingham-Herz-Studie)	21
Tabelle 2: Framingham-Risk-Score je nach Punktezahl	22
Tabelle 3: Baseline-Charakteristika der Patient*innen in der Kohorte	25
Tabelle 4: Radiologische Charakteristika von Patient*innen	27
Tabelle 5: Charakterisierung der Kohorte anhand diverser Biomarker in den Follow-Ups	29
Tabelle 6: Logistisches Regressionsmodell I bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation	29
Tabelle 7: Logistisches Regressionsmodell II bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation	31
Tabelle 8: Ergebnisse der univariablen Regressionsanalyse diverser Faktoren in Relation zur annualisierten Schubrate	32
Tabelle 9: Ergebnisse der R-Korrelation von diversen Faktoren in Relation zur annualisierten Schubrate	33
Tabelle 10: Vergleich von verschiedenen FRS-Cut-Off-Werten in Relation zum Risiko von PIRA	35
Tabelle 11: Zeichen von Hirnatrophie in Assoziation mit dem kardiovaskulären Risiko und nach verschiedenen FRS-Cut-Off-Werten	36

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zusammenspiel von den individuellen- und Umweltfaktoren in der multifaktoriellen Genese der Endotheldysfunktion	18
Abbildung 2: Logistisches Regressionsmodell I bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation	30
Abbildung 3: Logistisches Regressionsmodell II bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation	31
Abbildung 4: ROC-Kurven zur Analyse des kardiovaskulären Risikos als Vorhersagemerkmal von PIRA	34
Abbildung 5: Kohortenstratifizierung anhand verschiedener FRS-Cut-Off-Werten zwecks Identifizierung des PIRA-Risikos	35

1. Einleitung zum Thema und Ziel der Dissertation

Die Multiple Sklerose (MS) ist die häufigste chronisch-entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems mit einer Prävalenz von ca. 2.800.000 Menschen weltweit [1], und ist zudem die häufigste nicht-traumatische Erkrankung, die zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen bei jungen Erwachsenen führt [2]. Sie ist eine heterogene, multifaktorielle, immunvermittelte Erkrankung, die sowohl von genetischen als auch von Umweltfaktoren beeinflusst wird [3]. Die zunehmende Inzidenz der Erkrankung in Kombination mit dem Arbeitskraftverlust sowie den hohen Therapiekosten [4] stellt ein beträchtliches sozio-ökonomisches Problem dar, sodass die Erkrankung sowohl für die betroffenen Individuen als auch für die Gesellschaft von wichtiger Bedeutung ist.

Dank früherer Diagnosestellung und Entwicklung von neuen Substanzen, die als verlaufsmodifizierende Therapeutika (DMT) eingesetzt werden können, hat sich die Prognose der Erkrankung in den letzten Jahrzehnten stets verbessert, woraus eine zunehmende Prävalenz der Erkrankung im höheren Alter resultiert [5]. Parallel dazu zeigte sich in den letzten Jahren, trotz effizienter und zunehmend flächendeckender diagnostischer Möglichkeiten, eine Verschiebung des Zeitpunktes der Diagnosestellung in die späteren Lebensphasen [6], sodass epidemiologische Charakteristika einer „älteren“ Patientenkohorte berücksichtigt werden müssen.

Dies stellt aus dem Blickwinkel des multimodalen Krankheitsmanagements eine Herausforderung dar, denn die Anzahl an Komorbiditäten wächst ebenfalls mit zunehmendem Patientenalter. Hierunter sind die kardiovaskulären Begleiterkrankungen aufgrund ihrer hohen Prävalenzen vor allem im fortschreitenden Patientenalter von vordergründiger Relevanz [7].

Neben den oben genannten, epidemiologischen Daten konnten in den letzten Jahren viele neue Kenntnisse über die Entstehungs- und Progressionsmechanismen der Erkrankung gewonnen werden. In der Vergangenheit wurde die Beschwerdeprogression, je nach Verlaufsform der Erkrankung, meist auf die Teilerholung von aufgesetzten Schüben in der schubförmigen Verlaufsform

zurückgeführt [8]. Mittlerweile wurde ein schubunabhängiger Progressionsmechanismus identifiziert, welcher bereits in den frühen Phasen der Erkrankung vorhanden und an der Erwerbsunfähigkeitsakkumulation beteiligt ist [9], [10]. Dieser Progressionsmechanismus wurde als „Progression der Behinderung ohne Krankheitsaktivität (eng. PIRA „Progression independent of relapse activity) definiert [11]. Demgegenüber steht eine schubassoziierte Verschlechterung (eng. RAW „relapse-associated worsening) der Erkrankung. Infolgedessen werden die konzeptuellen Grenzen zwischen unterschiedlichen Verlaufsformen oder Krankheitsphasen zunehmend versetzt [10]. Die präzise Identifizierung von Faktoren, die mit einem erhöhten Risiko von PIRA assoziiert sind, ermöglicht die Identifikation von Risikopatient*innen und die Anwendung von präventiven Maßnahmen in dieser Risikokohorte zur Reduktion von PIRA.

Die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen von PIRA sind nicht verstanden. Dennoch belegen zahlreichen Studien, dass diverse Komorbiditäten sowohl zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als auch im Laufe des Krankheitsverlaufs bei PIRA-Patient*innen häufiger vorkamen [12]. Dabei sind kardiovaskuläre und metabolische Begleiterkrankungen von besonderer Bedeutung, da diese dazu führen, dass die Betroffenen beschleunigt eine Erwerbsunfähigkeit erlangen[13] und ein vergleichsweise geringeres Hirnvolumen aufweisen [14].

In der vorliegenden Dissertation wird anhand einer prospektiven Patientenkohorte der Effekt von kardiovaskulären Risikofaktoren auf die schubunabhängige Behinderungsprogression untersucht. Zur Bewertung der kardiovaskulären Risikofaktoren wird der Framingham-Risk Score [15] verwendet.

2. Literaturdiskussion und Einführung in die Grundlagen der Multiplen Sklerose

2.1. Geschichte einer „Erkrankung der tausend Gesichter“

Der früheste dokumentierte Fall, welcher am ehesten dem Bild einer MS entspricht, stammt aus dem 14. Jahrhundert und aus der südholländischen Provinz Schiedam: Im Jahr 1395 kommt es bei einem damals 16-jährigen Mädchen, Lidwina, zu einem Skiunfall. Bevor sie mit ca. 50 Jahren stirbt, erleidet sie unter anderem eine einseitige Erblindung, Schwäche und Schmerzen [16]. Eine detailliertere Fallbeschreibung erfolgt erst über 300 Jahren später. Beginnend im ersten Quartal des 19. Jahrhunderts dokumentiert Sir Augustus d'Estee, das Enkelkind von George III, seine sämtlichen Symptome [17]: Beginn seiner Beschwerden im Alter von 22 Jahren mit einer bilateralen Optikusneuritis (ON), im Verlauf Paraparese sowie Harninkontinenz bis er schlussendlich im Jahr 1848 verstirbt.

Ungefähr zeitgleich widmeten sich die Wissenschaftler der damaligen Zeit den histopathologischen Untersuchungen des Gehirns und des Rückenmarks. Im 19. Jahrhundert führte Jean Cruveilhier vier Autopsien durch. Dabei brachte er entzündliche Veränderungen im oberen Anteil des Rückenmarks einer Patientin in Zusammenhang mit ihren Schluck- und Sehbeschwerden [18]. Herrn Charles-Prosper Ollivier d'Angers gelang die erste „moderne“ Beschreibung der MS über einen jungen Mann, der mit Beginn seines 17. Lebensjahres mit wiederkehrenden Gehproblemen zu kämpfen hatte, die sich durch Wärme verschlimmerten [19]. Die Beschreibung der Symptome in den darauffolgenden 29 Jahren lassen sich rückblickend als eine „sekundäre Progredienz“ der Erkrankung deuten.

In der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts fasste Jean-Martin Charcot aus dem Hôpital de la Salpêtrière in Paris, basierend auf mehreren Fallbeschreibungen und Autopsiebefunden, die pathologischen Veränderungen im Jahr 1868 als eine eigene Entität zusammen, und nannte sie „sclérose en plaques“.

Die späteren Arbeiten gegen Ende des 19. Jahrhunderts befassten sich erstmalig mit den epidemiologischen Aspekten der Erkrankung [16], da ein häufigeres Auftreten der Erkrankung in Hochgebieten mit weniger Sonnenexposition zu beobachten war.

Ian Young und seine Kollegen erzielten im Jahr 1981 den Durchbruch, da sie durch die Anwendung der Magnetresonanztomografie (MRT) die Demyelinisierung als Kernmerkmal der Erkrankung präzise nachweisen konnten. Untersucht wurden insgesamt 10 Patient*innen, die mit Hilfe dieses Verfahrens mehrheitlich eine klinisch sichere Diagnose einer MS bekamen. Die Befunde der MRT konnten dann mit den vorher angefertigten Aufnahmen des Computertomogramms (CT) verglichen werden. Hierbei gelang durch die Anwendung der MRT nicht nur der Nachweis von einer beträchtlich höheren Anzahl an Läsionen als bei Anwendung eines CT, sondern es wurde auch die Identifizierung von Prädilektionsarealen möglich: periventrikulär und infratentoriell. Außerdem wurde eine morphologische Beschreibung der nachweisbaren Läsionen ermöglicht [20].

2.2. Ätiologie und Pathophysiologie der Erkrankung

Trotz intensiver Forschung ist die Ätiopathogenese der MS immer noch unvollständig verstanden. Angenommen wird ein komplexes Zusammenspiel von Umwelt- und genetischen sowie epigenetisch und nutritionalen Faktoren [21]. Hierunter sind unter anderem eine sedentäre Lebensführung, eine unausgewogene Diät, ein Nikotinkonsum, ein Vitamin-D-Mangel und diverse kardiovaskuläre Risikofaktoren wie beispielsweise eine arterielle Hypertonie oder Fettstoffwechselstörungen zu nennen [22]. In bisherigen Metaanalysen konnte eine Risikosteigerung für die Entwicklung einer MS um das bis zu 1,5-fache durch den regelmäßigen Nikotinkonsum nachgewiesen werden [23]. Passend dazu war eine schnellere Behinderungszunahme durch Nikotinkonsum zu beobachten [24].

2.2.1. Genetische Faktoren

Vermutet wird eine genetische Prädisposition für die Erkrankung, welche dann durch einen Infektionserreger getriggert wird. Bereits in früheren Studien konnten diverse Variationen in Genen der humanen Leukozytenantigenen (HLA) bei MS-Patient*innen nachgewiesen werden [25], dabei sind insbesondere HLA-DR15 und HLA-DR16 zu nennen. Seitdem wurden mittlerweile statistisch signifikante Assoziationen von über 200 Genloci mit MS-Suszeptibilität identifiziert, wovon 32 Gene mit dem Major histocompatibility complex (MHC) assoziiert sind [26]. In einer neueren Publikation

über eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) des International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) konnten für die homozygoten Allelträger*innen der DYSF-ZNF638-Variante (rs10191329) sowie Allelträger der DNM3-PIGC-Variante (rs149097173) jeweils beträchtlich verkürzte Zeiten von Krankheitsbeginn bis zur Notwendigkeit einer Gehhilfe nachgewiesen werden [27]. Die klinische Relevanz dieser genetischen Veranlagung schien sich vor allem darauf zu beziehen, dass die Träger*innen dieser Allelen früher an einer MS erkranken. Die homozygoten Träger für DYSF-ZNF638 zeigten eine 1.83-fach höhere Anzahl an Läsionen im Hirnstamm und 1.76-fach höhere Anzahl an kortikalen Läsionen [28]. Die Autoren stützen ihre Argumentation auf die Erkenntnis, dass diese Läsionen mit axonaler Schädigung und kortikaler Degeneration in Verbindung stehen, die jeweils als pathologische Marker für die Krankheitsprogression gelten [29]. Darüber hinaus konnten keine eindeutigen, klinischen Assoziationen von der genetischen Suszeptibilität mit der Prognose der Erkrankung gezeigt werden. Somit ist am ehesten von einer unabhängigen, genetischen Architektur als prognosebestimmendes Merkmal auszugehen.

2.2.2. Umweltfaktoren mit Fokus auf die Beziehung zwischen MS und Epstein-Barr-Virus (EBV)

Am überzeugendsten ist bezüglich der Beteiligung einer initial peripheren Immunantwort an der Pathogenese der Erkrankung die Evidenzlage für das Epstein-Barr Virus (EBV) [30] und das Human-endogene Retrovirus Typ-W (HERV-W) [31]. Abhängig von der initialen Immunantwort auf die Infektion mit EBV entwickelt sich, insbesondere bei inadäquater Kontrolle der Virusinfektion, eine Kolonisierung von B-Gedächtniszellen und T-Zellfollikeln bspw. in tertiären lymphoiden Strukturen [32]. Im Einklang mit diesen neurobiologischen Aspekten konnte in einer im Jahr 2022 erschienenen, longitudinalen, retrospektiven Kohortenstudie mit über 10 Millionen jungen Erwachsenen der US-Armee ein entscheidender Zusammenhang mit EBV-Infektion und Entwicklung einer MS demonstriert werden [33]. Insgesamt 955 Proband*innen wurden während ihren Dienstzeiten in der US-Armee mit einer MS diagnostiziert, weshalb die Blutproben von 801 Proband*innen zwecks Analyse des EBV-Status verfügbar waren. Bis auf einen einzigen Probanden waren sämtliche restliche Proband*innen, die im Verlauf an einer MS erkrankten, seropositiv für EBV. Dabei unterschieden sich die serologischen Charakteristika signifikant von einer

Alters-, Geschlechts-, Herkunft- und Teilstreitkraft-gemachten Vergleichsgruppe. Bei den anfänglich seronegativen Proband*innen, die im Verlauf mit einer MS diagnostiziert wurden, wurde in 34 aus 35 Fällen eine Serokonversion bzgl. des EBV-Status vor dem Onset der Erkrankung dokumentiert. Im Gegensatz dazu betrug die Rate einer EBV-Serokonversion bei den gesunden Proband*innen nur 57%. Der fehlende Anstieg von Serum Neurofilamentleichtketten (sNFL) im Vorfeld der Serokonversion bei den Proband*innen, die im Verlauf eine MS entwickelten, belegt, dass die Infektion mit EBV nicht nur der erstmaligen MS-Symptomatik vorausging, sondern die Infektion auch vor einem serologisch nachweisbarem axonalen Schaden [34] auftrat. Die Seropositivität für EBV war hier mit einer 32-fachen-Risikoerhöhung für die Entwicklung einer MS verbunden.

Im Gleichklang mit der durch den EBV-Status bedingten Prädisposition für die Entwicklung einer MS konnte ein Locus des ZNF638-Gen (nämlich rs10191329) nachgewiesen werden. Diese Genlocus führt zur Expression eines gleichnamigen Proteins, welches an der transkriptionellen Unterdrückung vom nicht-integrierten retroviralen DNA beteiligt ist. Aus diesen Beobachtungen ergeben sich möglicherweise therapeutischen Implikationen, da das ZNF638 Gen zum „Silencing“ von EBV oder HERV-W genutzt werden kann [35]. Darüber hinaus ist die Schwere der Infektion mit EBV mit der Entwicklung einer MS in den darauffolgenden Jahren assoziiert. Dies ist dadurch erklärt, dass die Infektionsschwere mit einer suboptimalen Kontrolle der primären Infektion korreliert: Höhere Antikörperspiegel gegen das Virus-Kapsid-Antigen p18 vom EBV (VCAp18) sowie das EBV nuklear Antigen (EBNA1) gingen demnach mit einem bis zu 12-fach höheren Risiko für die Krankheitsentwicklung einher [36]. Beachtlich war zudem die Überlappung von einigen, mit EBV-Serologie assoziierten HLA-Haplotypen mit solchen, die bekanntermaßen Risikoallele für MS sind (bspw. DRB1*15:01). Dies funktioniert nämlich als ein Ko-Rezeptor bei einer B-Zell-Linie für den EBV bei dessen Eintritt in die Zelle und stellt somit einen möglichen mechanistischen Zusammenhang dar [37].

2.2.3. Entwicklung von MS aus immunpathologischer Sicht

Die aktuelle Hypothese der Immunpathogenese der MS besteht im Wesentlichen aus zwei Säulen:

- Zunächst bilden sich Entzündungsherde im zentralen Nervensystem (ZNS), unmittelbar perivenös, die sog. „Plaques“, welche die akut-inflammatorische Komponente der Erkrankung repräsentieren [38]. Während der Frühphase der Erkrankung - zum Zeitpunkt der klinischen Erstmanifestation- wird die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) von der Infiltration proinflammatorischer Immunzellen aus der Peripherie in das ZNS begleitet [39]. Verstärkt wird dieser Prozess durch die Ausschüttung diverser Chemokine durch das Endothelium, welche weitere periphere Immunzellen anlockt [40]. Durch verschiedene endotheliale Zelladhäsionsmoleküle (CAM) wird diese Entzündungsantwort reguliert und die transendotheliale Immunzellinfiltration ermöglicht [40]. An diesem Entzündungsvorgang beteiligen sich die Zellen des adaptiven Immunsystems [41]. Dies führt folglich zu einem Myelinverlust sowie Glia-schaden im ZNS. Die hierdurch hervorgerufene Zerstörung der Myelinscheiden öffnet den Weg zur Aktivierung von T-Zellen des erworbenen Immunsystems [42].
- Die Erkrankung ist zudem durch eine progressive Pathologie gekennzeichnet, welche bereits sehr früh in der Krankheit zu beginnen scheint [43]. Die charakteristischen Merkmale dieses progressiv-degenerativen Prozesses beinhalten einen direkten Axonenverlust, eine kortikale Demyelinisierung, eine Aktivierung von Mikroglia sowie ein Remyelinisierungsversagen [44]. Während am Entzündungsprozess primär die T-Zellen des peripher adaptiven Immunsystems beteiligt sind, rückt im Bereich der Degeneration das angeborene Immunsystem zusammen mit den B-Zellen zunehmend in den Vordergrund. In Verbindung mit dem Verlust der physiologischen Homöostase tragen die Mikroglia-Zellen nicht mehr zur Aufrechterhaltung des antiinflammatorischen Milieus bei [45]. Als Ursache für den Verlust dieser physiologischen Funktion von Mikroglia-Zellen wird ein erworbener Schaden der „Axon-Glial-Unit“ diskutiert. Diese Hypothese besagt, dass vorbestehende Schäden von Oligodendrozyten sowie Myelinverlust den Weg zur Störung dieser Einheit eröffnen, woran sich die sekundäre Aktivierung von umliegenden Mikroglia-Zellen anschließt [46]. Dieser „Function-Switch“ von Mikrogliazellen hat einen erheblichen axonalen Schaden zur Folge [47]. Eine weitere Hypothese, die den progressiven Mechanismus der Erkrankung erklärt, schreibt

den Mikroglia-Zellen eine andere Rolle zu: Im Rahmen eines kompartmentalisierten Entzündungsmodells hängen die inflammatorische Eigenschaften der Mikroglia-Zellen von den kontinuierlich vorhandenen, proinflammatorischen Zytokinen [48] ab. Hierbei kommen den löslichen zytotoxischen Faktoren, die unter anderem aus den in unmittelbarer Nähe zu den Meningen befindlichen B-Zell-Follikeln stammen [49], eine bedeutende Rolle zu [50]. Es wird argumentiert, dass die meningealen B-Zell-reichen, follikel-ähnlichen Entzündungsherde („tertiary lymphoid follicles“ oder „tertiary lymphoid-like structures, TLS“) zytotoxische lösliche Faktoren aussondern und somit zur kortikalen Degeneration beitragen [51]. Diese meningeale Entzündungsherde scheinen in longitudinalen MRI Studien relativ robust über Jahre hinweg zu bestehen [52], sodass kortikale Mikroglia kontinuierlich inflammatorischen Stimuli ausgesetzt sind, solange die meningeale Entzündung besteht. Mittels Untersuchungen von kortikalen Mikrogliazellen konnten zwei unterschiedliche, jeweils MS-spezifische Mikroglia-Populationen identifiziert werden. Die Mikroglia im MS2-Kortex spielen eine bedeutende Rolle im Zusammenhang mit der neuronalen Degeneration bei fortschreitender MS. Im Vergleich zu der Mikroglia im MS1-Kortex, die mit einer höheren Dichte und verstärkter Aktivierung in der Nähe von Neuronen interagiert, weist die Mikroglia im MS2-Kortex eine größere morphologische Komplexität und den Verlust spezifischer Marker (P2Y12 und TMEM119) auf. Diese Mikroglia sind weniger an synaptischen Veränderungen beteiligt, wie sie bei MS1-Mikroglia zu beobachten sind, die prä-synaptische Strukturen entfernen und somit Neuronen relativ schützen. Stattdessen korrelieren Mikroglia im MS2-Kortex mit signifikantem neuronalem Verlust. Dies deutet darauf hin, dass die Mikroglia im MS2-Kortex eine weniger schützende Rolle übernehmen und zum Fortschreiten der neurodegenerativen Veränderungen beitragen[53].

Die B-Zellen üben wichtige Funktionen in beiden Säulen des Immunsystems, humoral und erworben, sowie an ihren Schnittstellen aus. Ihr Beitrag reicht von der Antikörperproduktion bis hin zur Regulierung der T- und Myeloid-Zellaktivierung [54]. Diese systemübergreifende Rolle von B-Zellen hat sich in den letzten Jahren durch den effektiven Einsatz von B-Zell-depletierenden Therapien gezeigt. Einerseits üben die B-Zellen in ihren aktiven Formen als

Plasmablasten oder Plasmazellen ihre klassische Funktion zur Antikörperproduktion aus, wobei sie auf die Unterstützung von antigenpräsentierenden T-Zellen angewiesen sind. Andererseits sind sie zusätzlich in den ektopen Lymphozytenaggregaten in den Meningen, vor allem in den tiefkortikalen Strukturen, auffindbar [55]. Daneben stellen die B-Zellen für Viren auch eine Art „Reservoir“ zur Verfügung [56]

2.3. Vereinheitlichung der Diagnosekriterien und klinische Verlaufsformen der Erkrankung

Unter Anwendung der sogenannten „McDonald“-Kriterien konnte in den letzten zwei Jahrzehnten eine internationale Vereinheitlichung der Diagnosekriterien erzielt werden, welche seit ihrer Erstbeschreibung im Jahr 2001 [57] insgesamt drei Mal revidiert wurden, zuletzt im Jahr 2017. Grundsätzlich ist im Falle eines schubverdächtigen Ereignisses das Vorliegen von einer zeitlichen- sowie räumlichen Dissemination im zentralen Nervensystem (ZNS) für die Diagnosestellung erforderlich. Letzteres sieht den Befall von mindestens zwei aus den vordefinierten vier Prädilektionsstellen des ZNS (periventrikulär, (juxta-)kortikal, infratentoriell und spinal) vor. Hierzu sollte radiologisch ein Mischbild aus Gadolinium-affinen- und nicht-affinen Läsionen im MRT nachweislich sein. Von dieser Regel gelten zwei Abweichungen: 1. Sollte es zu einem weiteren, von dem ersten klar abgrenzbaren, klinischen Schubereignis oder zum Nachweis von neuen zerebralen bzw. spinalen Läsionen in einer radiologischen Verlaufskontrolle kommen, kann von einer zeitlichen Dissemination ausgegangen werden. 2. Wenn es sich bei einem Patienten um ein singuläres klinisch schubverdächtiges Ereignis handelt, kann –seit der letzten Revision der Diagnosekriterien im Jahr 2017- das Vorhandensein einer autochtonen, intrathekalen IgG-Synthese (Positivität für oligoklonale Banden im Liquor) für das Erfüllen der zeitlichen Dissemination herangezogen werden [58].

Sollte gegebenenfalls eine - unabhängig von eindeutig abgrenzbaren, klinischen Schubereignissen - retrospektiv rekonstruierbare, voranschreitende Progression der Behinderung vorliegen, müssen mindestens zwei aus den folgenden, drei radiologischen bzw. laborchemischen Kriterien erfüllt sein, damit von einer progressiven Verlaufsform ausgegangen werden kann: Mindestens eine T2-

Hyperintensität in einer MS-Prädilektionsregion im ZNS, mindestens zwei T2-hyperintense, spinale Läsionen und/oder das Vorhandensein von oligoklonalen Banden (OKBs) im Liquor.

Die im Jahr 2024 auf dem Kongress des Europäischen Komitees für die Behandlung und Forschung der Multiplen Sklerose (ECTRIMS) präsentierten, aber noch nicht publizierten Revisionen der McDonald-Kriterien, werden zukünftig die Diagnosestellung vereinfachen. Die revidierten Diagnosekriterien sehen vor, dass Biomarker wie Kappa-Leichtketten (κ -FLC) einen höheren Stellenwert gewinnen werden. Zudem kann eine Beteiligung des Sehnervs zur Feststellung der räumlichen Dissemination herangezogen werden. Darüber hinaus werden neue radiologischen Marker wie das zentrale Venenzeichen (CVS) im Rahmen der Diagnosestellung ebenfalls berücksichtigt werden [59].

Die aktuelle Nomenklatur der Krankheitsphänotypisierung beinhaltet die folgenden Verlaufs- bzw. Erscheinungsformen:

Klinisch-isoliertes Syndrom (CIS: clinically isolated syndrom):

Das CIS entspricht einem erstmaligen, MS-verdächtigen Ereignis zu einem Zeitpunkt, zu welchem die Kriterien für die Diagnosestellung noch nicht erfüllt sind [60].

Radiologisch-isoliertes Syndrom (RIS: radiologically isolated syndrom):

Das RIS ist definiert als inzidentelles Vorhandensein von demyelinisierend-anmutender Marklagerläsionen im ZNS von Patient*innen ohne Korrelation klinischer Zeichen [61]. Gemäß der im Jahr 2023 vorgeschlagenen Kriterien sollte dieses Bild allerdings eine räumliche Dissemination beinhalten. Hierzu sollten entweder mindestens drei der vier in den McDonald-Kriterien vordefinierten MS-Prädilektionsstellen befallen sein oder der Befall einer einzigen Prädilektionsstelle zuzüglich eines weiteren, radiologischen (mindestens eine kontrastverstärkte, spinale Läsion) oder laborchemischen (isoliertes Vorkommen von oligoklonalen Banden im Liquor) Kriteriums vorliegen[62].

Schubförmig-remittierende Verlaufsform (RRMS: relapsing remitting multiple sclerosis):

Diese beinhaltet schubförmige Ereignisse, welche eine Voll- oder Teilremission aufweisen oder anhaltende Symptome zur Folge haben können, und stellt zudem die häufigste klinische Variante dar [58].

Sekundär-progrediente Verlaufsform (SPMS: secondary progressive multiple sclerosis):

Die SPMS zeichnet sich durch eine unaufhaltsame Behinderungszunahme nach einem initialen, klinischen Schubereignis aus [8]. Sie ist nach der RRMS die zweithäufigste Verlaufsform der Erkrankung. Grundsätzlich gelingt der Zeitpunkt der Transition von der RRMS in die SPMS erst durch eine retrospektive Evaluation der Krankheitsvorgeschichte.

Primär-progressive Verlaufsform (PPMS: primary progressive multiple sclerosis):

PPMS sieht eine mind. ein Jahr anhaltende Behinderungszunahme von Beginn an vor, allerdings ohne Schubaktivität. Beim Vorliegen von mindestens zwei weiteren Nebenkriterien, nämlich 1.) mindestens einer Läsion in einer MS-Prädilektionsregion im ZNS, 2.) mindestens zweier spinale Läsionen sowie 3) dem Vorkommen von oligoklonalen Banden (OKB) isoliert im Liquor [58], kann die Diagnose einer PPMS gestellt werden.

In der Tat sind die Grenzen zwischen den Verlaufsformen der MS - vor dem Hintergrund der zugrundeliegenden, pathophysiologischen Mechanismen - unscharf. Vielmehr handelt es sich hierbei um ein Kontinuum, in dessen Verlauf die degenerative Komponente der Erkrankung, statt der anfänglich dominanten entzündlichen Aktivität, zum führenden Treiber der Behinderungszunahme wird [63].

2.4. Paradigmenwechsel mit Hinblick auf die Behinderungsprogression: PIRA

In den letzten Jahren wurde die traditionelle dichotome Herangehensweise hinsichtlich der Behinderungsprogression, die entweder durch Teilremission von vorausgegangenen Schubereignissen oder eine schleichende Verschlechterung

durch neurodegenerative, schubunabhängige Mechanismen erklärt wurde, zunehmend hinterfragt [64].

Wie im letzten Kapitel im Detail diskutiert entwickelt sich im Verlauf der Erkrankung ein chronisch-aktiver Entzündungszustand im ZNS, welcher sich auch ohne Einfluss von peripheren Immunzellen eigenständig im ZNS aufrechterhält [29]. Im Rahmen einer histopathologischen Studie ließ sich eine Korrelation von der chronisch-aktiven Läsionslast nicht nur mit der Schwere der Erkrankung, sondern auch mit dem dominierenden Treiber der Behinderungszunahme nachweisen: Hiervon waren die Patient*innen in der „progressiven“ Phase stärker betroffen [65]. Grundsätzlich scheint daher ein dualer Mechanismus hinter dieser unaufhaltsamen, schubunabhängigen Behinderungsakkumulation zu stehen, an dem sich die chronisch-aktive MS-Läsionen sowie degenerative Veränderungen im ZNS beteiligen.

Dieses Phänomen erlangt zunehmend Beachtung, denn die schubunabhängigen Mechanismen, die zu der Progression der Erkrankung beitragen, scheinen – anders als früher angenommen - nicht nur in den späteren Phasen der Erkrankung eine Rolle zu spielen, sondern von Beginn an mit der entzündlichen Krankheitsaktivität zu korrelieren [66]. Den Ergebnissen einer kürzlich erschienenen, longitudinalen Kohortenstudie zufolge entwickelte ein beträchtlicher Anteil von Proband*innen innerhalb der ersten 5 Jahren nach dem ersten demyelinisierenden Ereignis in Abwesenheit von aufgesetzten klinischen Schüben eine klinische Verschlechterung, welche mit einer rasanteren Behinderungszunahme im weiteren Verlauf assoziiert war [67]. Diese Befunde bestätigten die Tendenz aus einer multizentrischen Registerstudie, welche die relativen Beiträge von klinischen Schubereignissen sowie der schubunabhängigen Progression untersuchte [68]: Hier wurde mittels retrospektiver Analyse einer italienischen MS-Kohorte die Rolle von PIRA in frühen Krankheitsstadien aufgeschlüsselt. Hervorzuheben war der Zeitraum der klinischen Datenerhebung, denn die erste klinische Evaluation nach EDSS erfolgte innerhalb des ersten Jahres nach Diagnosestellung von RRMS oder CIS. Es konnte dennoch gezeigt werden, dass die Behinderungsakkumulation bei 2/3 der Kohorte nicht den aufgesetzten, klinischen Schüben, sondern einer schubunabhängigen Progression zuzuschreiben waren.

In der Ära hochwirksamer, verlaufsmodifizierender Therapien könnte die klare Abgrenzbarkeit der Progressionsmechanismen der erfolgreichen Unterdrückung der Schubaktivität geschuldet sein [11]. Diese Therapien ermöglichen eine differenzierte Betrachtung der Progressionsmechanismen, da sie die aktiv-entzündliche Komponente der Erkrankung begrenzen und somit eine „Demaskierung“ von Alternativmechanismen, wie der Neurodegeneration, fördern.

Die gepoolte Analyse von zwei randomisierten Phase-3 Studien (OPERA I und II), welche die Wirksamkeit von Ocrelizumab - einem rekombinant humanisierten monoklonalen Antikörper mit selektiver Depletion von CD20-exprimierenden B-Zellen - gegen das Basistherapeutikum Interferon-Beta-1a (IFN- β -1a) untersuchten, ergab, dass PIRA in Hinblick auf die Behinderungsakkumulation den größten Anteil ausmachte und den relativen Anteil von RAW überschritt [11]. Diese Observationen stützten ebenfalls die Hypothese, dass die traditionelle Dichotomie zwischen schubförmigen und progredienten Verlaufsformen die komplexen neurobiologischen Grundlagen der Erkrankung aus dem Blickwinkel der Behinderungsprogression nicht mehr ausreichend erklärte [69].

Im Einklang mit den gepoolten Daten aus den OPERA-I und II-Studien konnte anhand einer retrospektiven Analyse der Novartis-MS (NO.MS) Datenbank, welche die Informationen von 27.000 Patient*innen umfasste, dargelegt werden, dass PIRA - pädiatrischen Patientenkollektive ausgenommen - einen wichtigen und während der schubförmig-remittierenden Phase meist unterschätzten Treiber der Erkrankung darstellte [64].

Aufgrund der Tatsache, dass die von Lublin & Reingold vorgelegte Klassifizierung [8] (letzte Revision im Jahr 2013) in Folge des Informationszugewinns der letzten Jahre über die zugrundeliegenden Mechanismen der MS nicht mehr zeitgemäß erscheint [70], wird heutzutage an die Etablierung einer neuen, Mechanismus-orientierten Nomenklatur der Verlaufsformen appelliert [71].

Limitiert ist die flächendeckende Verwendung von PIRA unter anderem durch die Heterogenität anderer Definitionen: Die aktuellste Konsensdefinition der PIRA berücksichtigt die folgenden Kriterien [10]:

1. Dokumentierte Behinderungszunahme, erfasst durch EDSS-Score, jedoch mindestens drei Monate vor- oder einen Monat nach einem klinischen Schubereignis.
2. Re-Evaluation der Baseline-Score nach jedem aufgesetzten Schubereignis.
3. Verifizierung dieser Score mindestens drei Monate nach der initialen Behinderungszunahme und mindestens einen Monat vor einem weiteren klinischen Schubereignis.

Der zweite Punkt, welcher eine Re-Evaluation des Baseline-Scores nach einem zwischenzeitlich aufgesetzten Schubereignis vorsieht, adressiert den Optimierungsbedarf bzgl. der Sensitivität von EDSS-Veränderungen und entspricht einem „Rebaselining“-Verfahren, womit die klinische Progression effektiver detektiert werden kann [72].

2.5. Kardiovaskuläre Komorbiditäten in MS

Das Verständnis zwischen MS und Komorbiditäten bei MS-Patient*innen ist eine zweischneidige Aufgabe: Einerseits wird der MS eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Komorbiditäten im Verlauf nach dem Erkrankungsbeginn zugeschrieben, denn MS führt durch zunehmende Mobilitätseinschränkungen zu einer sedentären Lebensführung und zu diversen damit assoziierten Begleiterkrankungen. Psychiatrische Begleiterscheinungen, insbesondere Depression, fanden sogar in den Werken von Herrn Charcot Berücksichtigung [73] und werden zum Teil im Zusammenhang mit den körperlichen Beeinträchtigungen gewertet.

Als Komorbiditäten werden jegliche Erkrankungen beschrieben, die „chronisch“ sind und nicht der „Index-Erkrankung“ (hier, MS) entsprechen [74].

Weniger selbstverständlich, jedoch zum Nachdenken Anlass gebend, erscheint der Beitrag von Komorbiditäten zum Krankheitsverlauf der MS. Sowohl solcher, welche bei der Diagnosestellung bereits bekannt waren, als auch von Komorbiditäten, die sich erst im späteren Verlauf entwickeln.

Frühere Arbeiten befassten sich mit der Thematik aus dem Blickwinkel von konkomitanten Autoimmunerkrankungen und fokussierten sich daher auf kleinere Patientenkollektive [75]. Weitere Untersuchungen, welche die Koinzidenz von Begleiterkrankungen betrachteten, orientierten sich eher an den teilweise übereinstimmenden pathophysiologischen Mechanismen der Komorbiditäten und der MS. Die ersten systematischen Arbeiten, die der eigentlichen Frage nachgingen, inwieweit die Komorbiditäten verschiedene Aspekte der MS und des Krankheitsmanagements beeinflussen könnten, zielen auf ein besseres Verständnis der im Folgenden zusammengefassten Punkten ab:

- Wie hoch ist die Prävalenz von Komorbiditäten der MS? Welche Begleiterkrankungen kommen am häufigsten vor?
- Führen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der MS vorbestehende Komorbiditäten zu einer beschleunigten Behinderungszunahme und Krankheitsprogression?
- Sind die Komorbiditäten mit einer verzögerten Diagnosestellung der MS assoziiert?
- Besteht eine Kausalität zwischen den Begleiterkrankungen und der MS aus Sicht der Krankheitsprognose? Sind irgendwelche Komorbiditäten in der Lage, den individuellen Krankheitsverlauf der MS zu beeinflussen? Wenn ja, welche Mechanismen sind daran beteiligt?

In mehreren epidemiologischen Kohortenstudien kristallisierte sich ein Muster hinsichtlich der Prävalenz von Komorbiditäten bei MS-Patient*innen heraus. Besonders hervorzuheben war das Vorkommen von kardiovaskulär- und metabolischen Begleiterkrankungen, denn diese waren zum Teil mit einer schlechteren Prognose assoziiert.

Die sekundäre Analyse einer klinischen Studie, die die Effektivität von IFN- β -1a mit Glatirameracetat (GA) bei MS-Patient*innen verglich, konnte hinsichtlich der Komorbiditäten bei den Studienteilnehmer*innen zeigen, dass eine konkomitante Dyslipidämie in nahezu allen klinischen Endpunkten (u.a. Behinderungszunahme sowie Auftreten von neuen bzw. Gadolinium-aufnehmenden MRT-Läsionen) einen negativ prognostischen Wert besaß [12]. Eine weitere Studie, die den Effekt von

vaskulären Risikofaktoren (VRF) bei Patient*innen mit einem CIS oder einer MS auf das Hirnvolumen untersuchte, zeigte, dass das Vorliegen von mindestens einem VRF mit einem geringeren normalisierten Hirnvolumen (NBV) sowie einer Reduktion des Volumens der grauen Substanz und des Marklagers assoziiert war [14]. Bemerkenswert war zudem der Anteil an jüngeren MS-Patient*innen, die eingeschlossen waren, mit einem mittleren Alter von 32 Jahren. Eine populationsbasierte Studie aus Serbien, die den Effekt von kardiovaskulären Erkrankungen sowie Diabetes mellitus Typ II auf die Behinderungsprogression untersuchte, konnte darlegen, dass die von den genannten Komorbiditäten betroffenen Patient*innen eine beschleunigte Krankheitsprogression zeigten und die vordefinierten EDSS-Werten als primäre Endpunkte schneller erreichten [76]. Eine italienische Arbeitsgruppe, welche die klinischen Endpunkte einer Schubaktivität, eines Behinderungsgrades sowie der möglichen Eskalationen von verlaufsmodifizierenden Therapeutika in Relation zum individuellen kardiovaskulären Risiko untersuchte, konnte nachweisen, dass eine höhere kardiovaskuläre Gesamtbelastung für sämtliche klinische Endpunkten mit einer schlechteren Prognose einherging und mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eine Therapieeskalation erforderlich machte [77].

Eine weitere retrospektive Studie, die sich mit der Kognition von MS-Patient*innen in Relation zu ihrem kardiovaskulären Risikoprofil befasste, zeigte, dass ein höherer Risiko-Score mit verbalen Lernschwierigkeiten assoziiert war [78].

Eine zeitgerechte Diagnosestellung trägt maßgeblich zur effektiven Krankheitskontrolle bei, da die hocheffektiven DMTs ihre optimale Wirksamkeit erst dann entfalten können, wenn die Therapieinitiierung im sogenannten „therapeutischen Fenster“ in der frühen Krankheitsphase erfolgt [79], [80]. Das wachsende Repertoire an DMTs führte in den letzten Jahren zu einem Paradigmenwechsel hinsichtlich der Therapiestrategien bei MS: Heutzutage wird das Konzept „Hit-hard-and-early“ bevorzugt umgesetzt, welches eine rechtzeitige Diagnosestellung voraussetzt. Aus dieser Perspektive kommt der Identifizierung von Faktoren, die mit einer verzögerten Diagnosestellung von MS einhergehen können, eine entscheidende Bedeutung zu. Dieser Aspekt wurde unter anderem im Rahmen einer populationsbasierten Kohortenstudie aus Dänemark untersucht [81]. Hier waren beträchtliche

Verzögerungen in der Diagnosestellung im Falle von vorbestehenden kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus sowie Lungen- und Krebserkrankungen registriert.

Eine rezentere Metaanalyse von insg. 17 Phase-III Studien, die verschiedene DMTs bei MS untersuchten, ergab eine Assoziation von Komorbiditäten mit klinischer- und radiologischer Krankheitsaktivität [82]. Unter den kardiovaskulären Begleiterkrankungen persistierte ihr negativer Effekt auf die Krankheitsaktivität auch nach der Adjustierung für demografische- und klinische Faktoren.

Die kausale Beziehung zwischen kardiovaskulären Komorbiditäten und MS wird in den kommenden Kapiteln näher erörtert.

2.6. Wie beeinflussen die schädlichen Faktoren die Progression der Erkrankung?

Mit der Entwicklung von den verlaufsmodifizierenden Therapien (DMT) kann heutzutage die inflammatorische Komponente der Erkrankung sehr effektiv bewältigt werden, wohingegen die Verlangsamung der degenerativen Komponente der Erkrankung und in Folge die Verhinderung des Überganges in die sekundär-progressive Verlaufsform weiterhin optimierungsbedürftig sind [43]. In dieser Hinsicht sind Umweltfaktoren wie Immobilität, unausgewogene Diät, Rauchen und sonstige kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterielle Hypertonie, Dyslipidämie und Diabetes mellitus mit einer mikrovaskulären Dysfunktion assoziiert, welche die Hirnatrophie sowie Netzwerkstörungen bei der MS beschleunigt [83]. Abgesehen davon, dass die MS durch ihr vielfältiges klinisches Bild zu einer sedentären Lebensführung [84] und hierdurch zur Adipositas mit diversen, damit assoziierten kardiovaskulären Problemen führen kann [85], können sich andere Faktoren, die unabhängig der körperlichen Aktivität sind, ebenfalls an der Entwicklung von kardiovaskulären Risikofaktoren bei MS- Patient*innen beteiligen, weil low-grade und chronische inflammatorische Prozesse genauso wie oxidativer Stress zu der Entstehung einer Endotheldysfunktion und somit zu atherosklerotischen Veränderungen führen können [86].

Der genaue pathophysiologische Mechanismus, durch welchen kardiovaskuläre Risikofaktoren den Verlauf der MS-Erkrankung beeinflussen, ist jedoch unklar.

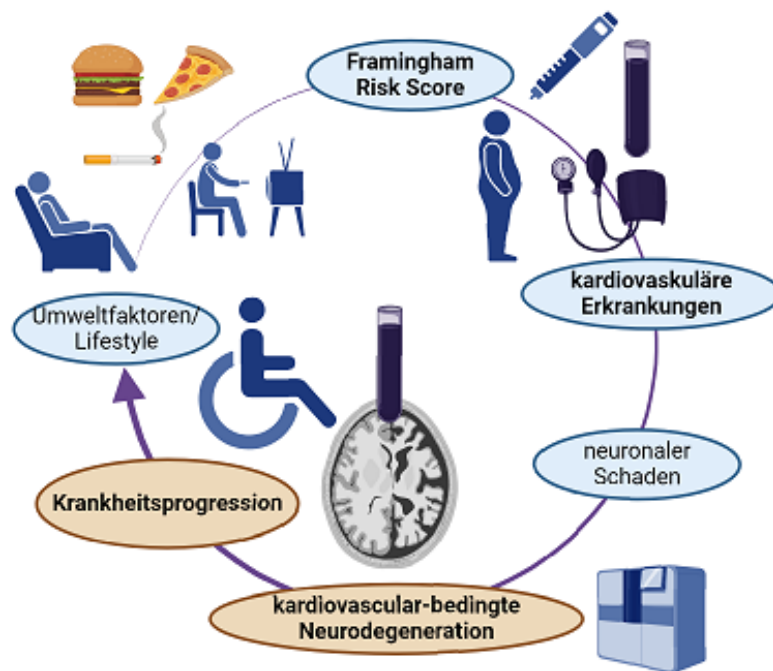


Abbildung 1: Zusammenspiel von den individuellen- und Umweltfaktoren in der multifaktoriellen Genese der Endotheldysfunktion

Hinsichtlich des axonalen Schadens durch den oxidativen Stress besteht eine Assoziation zwischen den mikrovaskulären Veränderungen im Hirnparenchym und der sNFL bei ischämischen Schlaganfällen, welche - im Falle der MS - zu reduzierten zerebralen Reserven, Netzwerkstörungen und Krankheitsprogression führen mag [87]. Mit Hilfe von sNFL ist zudem eine präzise Identifizierung von MS-Patient*innen mit einem Risiko für eine schnellere Krankheitsprogression möglich [88]. Somit zeichnet sich das sNFL als ein erfolgsversprechender Biomarker aus, welcher mikrovaskuläre Veränderungen bei den MS-Patient*innen verlässlich widerspiegelt und zur Identifizierung von solchen, denen eine Krankheitsprogression durch kardiovaskuläre Risikofaktoren droht, herangezogen werden kann.

3. Material und Methoden

3.1. Prospektive Analyse einer monozentrischen Patientenkohorte

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die prospektive Analyse einer monozentrischen Patientenkohorte. Es wurden Patient*innen eingeschlossen, die in der neuroimmunologischen Ambulanz der Klinik und Poliklinik für Neurologie an der Universitätsmedizin Mainz behandelt werden (s. Anhang: Ethikvotum von der Ethik-Kommission bei der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz vom 04.03.2010, Nr.: 14758, für die Studie „Identifizierung und Charakterisierung von Markern zur Pathologie, zum Verlauf und zum Therapieansprechen bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems und Kontrollen“). Durch einen ausführlichen Fragebogen wurde ein umfassendes Patientenprofil erstellt, das neben den Informationen zur neurologischen Grunderkrankung auch sämtliche Begleiterkrankungen sowie Angaben zur Medikation, Sozial- und Familienanamnese ermittelte. Die Daten der Kohorte wurden über die Follow-up-Jahre hinweg kontinuierlich aktualisiert. Für die Aktualisierung der klinischen Befunde in der Datenbank wurden die Berichte in den Patientenakten über die ambulanten Verlaufskontrollen in der neuroimmunologischen Sprechstunde ausgewertet. Die EDSS-Scores wurden ebenfalls den Patientenakten entnommen, die von Seiten der zuständigen Ärztinnen und Ärzte der neuroimmunologischen Ambulanz erhoben wurden. Die sNFL-Bestimmungen erfolgten im Labor der Abteilung für experimentelle Neuroimmunologie an der Universitätsmedizin Mainz, diese Werte sind jeweils als pg/ml angegeben. Zur Erfassung des individuellen kardiovaskulären Profils wurde eine modifizierte Version der Framingham-Skala angewandt und die hierdurch risikostratifizierten Proband*innen wurden dann anhand diverser klinischer und paraklinischer Marker analysiert. Diese beinhalteten unter anderem: (1) EDSS-Scores bei Baseline sowie in den Jahren 2, 4 und 6; (2) das Vorliegen von PIRA in vordefinierten zeitlichen Abständen jeweils zwischen zwei Follow-Up-Visiten; (3) sNFL-Werte bei Baseline sowie im Follow-Up-Jahr 2. Die MRT-Daten stammen aus der Klinik für Neuroradiologie der Universitätsmedizin Mainz. Die Zeichen von Hirnatrophie wurden durch die Sichtung der MRT-Bildern durch einen erfahrenen Neurologen anhand der T1w-Sequenzen ermittelt, hierbei wurde das Vorliegen von Black Holes als Zeichen für Hirnatrophie gewertet.

3.2. Statistische Analyse

Zur Auswertung der Ergebnisse wurden mit Hilfe der Statistik-Software „SPSS 29 (IBM®) die deskriptiven- und explorativen Statistikanalysen vorgenommen. Als statistisches Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

Zur Prüfung der statistischen Normalverteilung erfolgten Kolmogorov-Smirnov- sowie Shapiro-Wilk-Tests, wonach die Daten im Falle einer Normalverteilung mittels eines T-Test, ansonsten mittels Mann-Whitney-U-Test analysiert wurden.

Um die schiefe Verteilung der sNFL-Daten zu korrigieren, wurde eine Log-Transformation durchgeführt. Diese Transformation wurde angewendet, um die Daten näher an eine Normalverteilung zu bringen und die Ausreißer zu mildern.

Bei der Durchführung der multivariablen Regressionsanalysen wurde der PIRA-Status als abhängige Variable angewandt. Als unabhängige Variablen wurden sowohl die Faktoren verwendet, welche zuvor einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (PIRA vs. Keine PIRA) ohne multiple Adjustierung ($p < 0.05$) zeigten, als auch weitere Faktoren, die basierend auf der Literaturlage mit einer klinischen Relevanz verbunden waren.

Die MedCalc-Statistik-Software (MedCalc Software Ltd, 8400 Belgien) wurde zur Identifizierung von diversen FRS-Cut-Off-Werten sowie zur Generierung von ROC-Kurven (Receiver operating characteristic) genutzt.

3.3. Charakterisierung des individuellen kardiovaskulären Risikos: Framingham-Herz-Studie

Die Framingham-Herz-Studie ist eine seit dem Jahr 1948 laufende kardiovaskuläre Kohortenstudie, ursprünglich mit 5209 Proband*innen aus der Stadt Framingham, Massachusetts, die sich über drei Generationen erstreckt [15]. Um das kardiovaskuläre Risikoprofil in unserer Kohorte zu quantifizieren, wurde eine modifizierte Version des Framingham-Berechnung-Formell angewandt [89]. Wir

fürten geschlechtsspezifische Analysen von den modifizierbaren und nicht-modifizierbaren kardiovaskulären Risikofaktoren durch, die anhand eines individuellen Fragebogens identifiziert und entsprechend in ein zentrales Register aufgenommen wurden. Die Berechnung beinhaltete die Daten über Alter, BMI sowie Vorliegen arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, zudem Raucherstatus.

Tabelle 1: Zu vergebende, geschlechtsspezifische Punkte je nach Alter und kardiovaskulärem Risikofaktor (adaptiert aus Framingham-Herz-Studie)

CVRF	Range	weiblich	männlich
Alter	18-34 Jahren	0	0
	35-39 Jahre	2	2
	40-44 Jahre	4	5
	45-49 Jahre	5	6
	50-54 Jahre	7	8
	55-59 Jahre	8	10
	60-64 Jahre	9	11
	65-69 Jahre	10	12
	70-74 Jahre	11	14
	75+ Jahre	12	15
Arterielle Hypertonie	unbehandelt	2	2
	behandelt	3	3
Rauchen	Ja	4	4
	Nein	0	0
Diabetes mellitus	Ja	5	5
	Nein	0	0
Hypercholesterinämie	Ja	3	2
	Nein	0	0

Die Gesamtpunktzahl von 0 bis 18+ entsprach einem geschätzten Allgemeinrisiko von 1,1% bis über 30% hinsichtlich der Entwicklung einer makrovaskulären Erkrankung während des darauffolgenden Jahrzehntes, entsprechend der individuellen Belastung an kardiovaskulären Risiken.

Da die Evaluation des kardiovaskulären Risikos bei Baseline nicht auf den Befunden der Blutdruckmessungen, sondern auf anamnestische Angaben basierte, nahmen wir an, dass die Patient*innen mit einer bekannten arteriellen Hypertonie ohne antihypertensiven Behandlung systolische Werte zwischen 140mmHg und 160mmHg

und diastolische Werte zwischen 90mmHg und 100mmHg aufwiesen - entsprechend Grad I der arteriellen Hypertonie der aktuellsten Definition gemäß der ESC/ESH (Europäische Gesellschaft für Kardiologie und die Europäische Gesellschaft für Bluthochdruck) Leitlinien [90]. Die Patient*innen mit einer bekannten arteriellen Hypertonie, die jedoch medikamentös eingestellt waren, wurden als normotensiv dokumentiert.

Bezüglich des Raucherstatus wurden sämtliche Patient*innen, die auf die Frage nach dem Nikotinkonsum eine nicht-quantifizierbare Antwort gaben, als Nichtraucher dokumentiert. Rein statistisch war der Anteil dieser Patient*innen an unserer Kohorte jedoch unter 1%.

Tabelle 2: Framingham-Risk-Score je nach Punktezahl

Punktezahl	weiblich	männlich
0	1,20%	1,60%
1	1,50%	1,90%
2	1,70%	2,30%
3	2,00%	2,80%
4	2,40%	3,30%
5	2,80%	3,90%
6	3,30%	4,70%
7	3,90%	5,60%
8	4,50%	6,70%
9	5,30%	7,90%
10	6,30%	9,40%
11	7,30%	11,20%
12	8,60%	13,20%
13	10%	15,60%
14	11,70%	18,40%
15	13,70%	21,60%
16	15,90%	25,30%
17	18,50%	29,40%
18	21,50%	
18+		>30%
19	24,80%	
20	28,50%	
21+	>30%	

3.4. PIRA als primärer Endpunkt und mögliche Substrat kardiovaskulär-bedingten Krankheitsprogression

Aufgrund der prospektiven Natur der vorliegenden Arbeit, die eine Kohorte untersucht, welche bereits im 2011 begann, Patient*innen mit RRMS oder CIS vor dem Beginn einer verlaufsmodifizierenden Therapie zu rekrutieren, verwendeten wir die folgenden Kriterien, die zur Evaluation des PIRA-Status herangezogen wurden:

1. EDSS-Anstieg zwischen den Follow-Up-Jahren 4 und 6
2. Das Fehlen von zwischenzeitlichen Schubereignissen zwischen den Follow-Up-Jahren 4 und 6

Definitionsgemäß sieht PIRA vor, dass die entzündliche Schubaktivität sowie Neurodegeneration durch die Einführung spezifischer Zeitfenster zwischen dem Auftreten von Schüben und der beobachteten Zunahme der Behinderung voneinander getrennt werden können [66]. In dieser Arbeit wird PIRA als primärer Endpunkt von kardiovaskulär-getriebener Behinderungsakkumulation untersucht. Dieser wird dann die jährliche Schubrate (ARR) als Verlaufsmarker für eine schubassoziierte Verschlechterung (RAW) gegenübergestellt. Hierbei wird versucht, die folgenden Fragen zu erörtern:

- Korreliert das kardiovaskuläre Profil mit einer schlechten Prognose der Erkrankung hinsichtlich einer schnelleren Behinderungsakkumulation?
- Wenn ja, durch welchen pathophysiologischen Mechanismus der Erkrankung lässt sich diese Tendenz adäquat erklären?

4. Ergebnisse

4.1. Basischarakteristika der Kohorte

Über einen Zeitraum von 6 Jahren wurden die Patient*innen weiterverfolgt. In diesem Zeitraum entwickelten von den insgesamt 321 nachverfolgten Patient*innen 86 (26,7%) eine PIRA. Die Patient*innen, die während des Follow-Ups eine PIRA entwickelten, wiesen ein höheres Durchschnittsalters von 38 Jahren (IQR: 31-46) auf, während hingegen das Durchschnittsalter in der Gruppe von Patient*innen, die keine PIRA entwickelten, bei 31 Jahren (IQR: 26-41) lag ($p < 0,001$).

Über 68% aller Patient*innen waren weiblich. Der Anteil an weiblichen Patientinnen war in der Gruppe, in der keine PIRA dokumentiert wurde, etwas höher (PIRA 58,1%, vs. keine PIRA 68,1 %), allerdings unterschieden sich die zwei Gruppen hinsichtlich der Geschlechterverteilung nicht signifikant voneinander ($p=0,097$). Es zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die einzelnen Determinanten des Framingham-Risk-Scores (FRS), nämlich der arteriellen Hypertonie (PIRA 11,6% vs. keine PIRA 6,4%, $p=0,12$), der Hypercholesterinämie (PIRA 2,3% vs. keine PIRA 1,3%, $p=0,501$), des Nikotinkonsums (PIRA 34,1% vs. keine PIRA 31,5%, $p=0,654$) sowie des Diabetes mellitus (PIRA 3,5% vs. keine PIRA 0,9%, $p=0,091$).

Bezüglich des Vorhandenseins von Serum- und Liquor-Biomarkern zeigten sich signifikante Unterschiede in den Serumspiegeln des Proteins Neurofilament Light Chain (sNFL), da die Patient*innen, die keine PIRA entwickelten, höhere Werte aufwiesen. Allerdings ist bei der Interpretation dieser Konstellation Vorsicht geboten, denn die Zeitpunkte von sNFL-Bestimmungen korrelierten teilweise mit rezenter klinischen Schubereignissen. Das Vorkommen einer intrathekalen IgG-Synthese im Liquor zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (PIRA 63,9% vs. keine PIRA 65,3%, $p=0,843$).

Tabelle 3: Baseline-Charakteristika der Patient*innen in der Kohorte

Variablen	Keine PIRA (n: 235)	PIRA (n: 86)	p-wert
Alter in Jahren	31 (26-41)	38 (31-46)	<0,001
Weibliches Geschlecht	160/235 (68,1%)	50/86 (58,1%)	0,097
Krankheitsdauer in Monaten	4 (2-8)	5 (2-13,25)	<0,001
EDSS	1,5 (1-2)	1 (0,1,5)	<0,001
Rauchen	73/232 (31,5%)	29/85 (34,1%)	0,654
BMI, kg/m ²	24,24 (21,59-27,25)	25,83 (22,59-29,71)	0,017
Diabetes mellitus	2/235 (0,9%)	3/86 (3,5%)	0,091
Arterielle Hypertonie	15/235 (6,4%)	10/86 (11,6%)	0,12
Hypercholesterinämie	3/235 (1,3%)	2/86 (2,3%)	0,501
FRS	2% (1,20%-3,3%)	2,80% (1,60-4,70%)	<0,001
sNFL (pg/ml)	2,42 (2,02-2,94)	2,31 (1,95-2,94)	<0,001
OKBs im Liquor	65,3% (115/176)	63,9% (39/61)	0,843

Abkürzungen: BMI, Body-Mass-Index; EDSS, Extended Disability Status Scale (Synonym: Kurtzke- Skala); OKB, oligoklonale Banden; PIRA, Progression unabhängig von Schüben (eng.: Progression Independent of Relapse Activity; sNFL, das Protein Neurofilament Light Chain (eng.: Neurofilament light chain).

Die Daten werden als Zahl (Prozentsatz), Median (Interquartilbereich 25.-75. Perzentil) oder Mittelwert dargestellt. Zwecks Normalisierung der Schiefe wurde die Logarithmierung der sNFL-Werte angewandt.

4.2. Radiologische Charakteristika der Kohorte bei Baseline sowie Follow-Ups

Zur näheren Charakterisierung der Kohorte wurden zudem die während des gesamten Follow-Ups erhobenen radiologischen Befunde analysiert. Die hierbei herangezogenen radiologischen Endpunkte beinhalteten sowohl die Marker einer aktiven Entzündung (wie das Auftreten von neuen Gd-aufnehmenden Läsionen) sowie einer voranschreitenden Neurodegeneration (wie Zeichen von Hirnatrophie). Nach der Dichotomisierung je nach PIRA Status unterschieden sich hierbei sowohl die Anzahl an Black holes in den T1-gewichteten MRT-Sequenzen im ersten Follow-up-Jahr (63,5% in PIRA vs. 42,3% in keine PIRA, p= 0,04) wie auch Zeichen von Hirnatrophie im zweiten Follow-up-Jahr (33,9% in PIRA vs. 20,4% in keine PIRA p= 0,032) signifikant voneinander. Die genannten Parameter näherten sich in den darauffolgenden Follow-up-MRT-Untersuchungen zunehmend an, so dass sich ab

dem vierten Follow-up-Jahr keine statistisch signifikanten Unterschiede ergaben (s. Tabelle 4).

Bei der Auswahl von in der untenstehenden Tabelle genannten Cut-off Werten hinsichtlich der Anzahl an neuen Läsionen in den T2-gewichteten MRT-Sequenzen wurde an die klinische Praxis unseres Zentrums bei den klinischen Entscheidungen bzgl. Eskalation von verlaufsmodifizierenden Therapien orientiert, die den Expertenmeinungen im Follow-up Zeitraum entsprachen. Die Entscheidung zur Therapieeskalation basiert grundsätzlich auf die klinisch- und radiologische Gesamtkonstellation, hinsichtlich der Letzteren bestand damals, so wie jetzt, keine Klasse I Evidenz, wie viele neuen T2w-Läsionen bei klinischen stabilen Patient*innen eine Therapieeskalation rechtfertigen würden. Eine Studie von Romeo et al. befasste sich mit der Thematik, in der sie in einer Kohorte von 416 Patient*innen mit RRMS unter einer immunmodulatorischen Therapie mit IFN- β hinsichtlich der Behinderungszunahme unter Anwendung von Rio Score (RS) [91] bzw. modifizierten Rio Score (MRS) [92] untersuchten [93]. Es zeigte sich unter Anwendung vom MRS eine stärkere Assoziation zwischen der Wahrscheinlichkeit eines suboptimalen Therapieansprechens auf IFN- β und einer höheren MRS-Score, bei der >4 neue T2w-Läsionen als Cut-off definiert wurden. Eine im Jahr 2019 veröffentlichte Kohortenstudie, die Daten von RRMS-Patient*innen aus 68 Zentren in 21 Ländern untersuchte, wendete einen höheren Cut-off Wert bzgl. der Anzahl von neuen T2w-Läsionen als Entscheidungsgrundlage für Therapieeskalation an, welche 5-8 betrug [94]. Aufgrund des höheren Risikos für den Übergang in eine SPMS bei den Patient*innen mit 5 oder mehr neuen T2w-Läsionen in einer MRT-Verlaufskontrolle wurde dieser Cut-off allerdings von anderen Autoren als womöglich „viel zu hoch“ betrachtet [95]. Eine rezentere Studie, die Daten aus fünf Zentren in Österreich und in der Schweiz analysierte, untersuchte den isolierten Wert von MRT als „Surrogatmarker“ bei der Entscheidung zur DMT-Eskalation bei Abwesenheit von sonstigen Hinweise auf eine Progression der Erkrankung [96]. Hierbei zeigten sich Patient*innen mit RRMS, die drei oder mehr neue T2w-Läsionen in einer Verlaufs-MRT im ersten Follow-up Jahr aufwiesen, ein 4-Fach erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines klinischen Schubereignisses in den darauffolgenden 12 Monaten, im Falle von keiner DMT-Eskalation. Zusammenfassend entschieden wir uns, einen Cut-off Wert von ≥ 3 T2w-Läsionen zu setzen, um unsere Kohorte zu kategorisieren,

welcher sowohl unserer klinischen Praxis wie auch den damals herrschenden Herangehensweisen in der Neuroimmunologie-Szene entsprach.

Tabelle 4: Radiologische Charakteristika von Patient*innen

Variablen		Keine PIRA	PIRA	p-wert
Anzahl von T2L bei BL	<3	7/235 (3%)	3/86 (3,5%)	0,18
	≥3	228/235 (97,9%)	83/86 (96,5%)	
Anzahl von neuen T2L im FU-1	<3	7/229 (3,1%)	2/82 (2,4%)	0,775
	≥3	222/229 (96,9)	80/82 (97,6%)	
Anzahl von neuen T2L im FU-2	<3	4/283 (1,9%)	1/73 (1,4%)	0,762
	≥3	205/209 (98,1%)	72/73 (98,6%)	
Anzahl von neuen T2L im FU-4	<3	6/230 (2,6%)	1/59 (1,7%)	0,477
	≥3	163/230 (96,4)	58/59 (98,3%)	
Anzahl von neuen T2L im FU-6	<3	3/197 (1,5%)	2/71 (2,8%)	0,63
	≥3	194/197 (98,5)	69/71 (97,2%)	
Gd-Anreicherung bei BL		96/224 (42,9%)	34/83 (41%)	0,766
Gd-Anreicherung im FU-1		24/27 (88,9%)	15/15 (100%)	0,18
Gd-Anreicherung im FU-2		25/203 (12,3%)	9/72 (12,5%)	0,967
Gd-Anreicherung im FU-4		14/138 (10,1%)	4/50 (8%)	0,659
Gd-Anreicherung im FU-6		12/129 (9,3%)	2/38 (5,3%)	0,43
Zeichen von Hirnatrophie bei BL		13,5% (25/185)	12/66 (18,2%)	0,358
Zeichen von Hirnatrophie im FU-1		18,5% (35/189)	18/69 (26,1%)	0,183
Zeichen von Hirnatrophie im FU-2		20,4% (37/181)	33,9% (21/62)	0,032
Zeichen von Hirnatrophie im FU-4		26,5% (36/136)	32,6% (15/46)	0,423
Zeichen von Hirnatrophie im FU-6		28,3% (45/159)	32,8% (22/64)	0,371
Black holes in T1W1 bei BL		80/189 (42,3%)	40/63 (63,5%)	0,04
Black holes in T1W1 im FU-1		109/176 (61,9)	40/66 (60,6)	0,85
Black holes in T1W1 im FU-2		113/172 (65,7%)	37/58 (63,8%)	0,792
Black holes in T1W1 im FU-4		92/132 (69,7%)	33/45 (73,3%)	0,644
Black holes in T1W1 im FU-6		128/168 (76,2%)	34/52 (65,4%)	0,122

Abkürzungen: BL, Ausgang (eng.: Baseline); FU, Weiterverfolgung (eng.: Follow-up); Gd, Gadolinium; PIRA, Progression unabhängig von Schüben (eng.: Progression Independent of Relapse Activity); T1W1, T1-Wichtung; T2L, Läsion in der T2-Wichtung

4.3. Klassifizierung der Kohorte anhand klinisch- und biochemischer Marker während des Follow-Ups

Darüber hinaus wurde die statistische Analyse um weitere klinische und biochemische Marker ergänzt. Im Gegensatz zu den sNFL-Verhältnissen bei Baseline, bei den höhere Werte in der Gruppe aufzuzeichnen waren, die im Verlauf des Follow-Ups keine PIRA entwickelten, zeigten sich in Anbetracht von signifikant unterschiedlichen sNFL-Quotient zwischen Follow-up-Jahr 2 und Baseline eine andere Tendenz, dass ein stärker voranschreitender axonaler Schaden in der PIRA-Gruppe zu dokumentieren war (PIRA 0,83 vs. keine PIRA 0,75, $p < 0,001$, s. auch Tabelle 5)). Im Hinblick auf die jährlichen Schubraten (ARR), welche sich in den zwei Subgruppen der Kohorte ebenfalls signifikant voneinander unterschieden und in der Gruppe höher lag, bei der keine PIRA registriert war (PIRA 0,94 vs. keine PIRA 1,52, $p < 0,001$), ließ sich diese Tendenz als Folge der unaufhaltsamen Progression der Erkrankung werten.

Um die Dynamik der Therapiestrategien mit unterschiedlichen DMTs in den beiden Gruppen zu analysieren, nahmen wir zunächst, in Anlehnung an eine kürzlich erschienene Arbeit von Pfeuffer et al. [97], eine Substanzklassifizierung vor, wonach Interferone, Glatirameracetat, Teriflunomid und Dimethylfumarat als Plattform-Therapeutika & Natalizumab, Rituximab, Fingolimod, Ocrelizumab, Daclizumab, Alemtuzumab und Mitoxantrone als aktive Therapeutika aufgegliedert wurden. Bemerkenswert war, dass der PIRA-Status keinen nennenswerten Effekt auf die Entscheidungsfindung bzgl. einer möglichen Therapieeskalation auszuüben schien.

Tabelle 5: Charakterisierung der Kohorte anhand diverser Biomarker in den Follow-Ups

Variable		Keine PIRA	PIRA	p-wert
sNFL im FU-2		2,04 (1,79-2,46)	2,01 (1,72-2,31)	<0,001
sNFL im FU2-sNFL bei BL-Ratio		0,75 (0,43-1,17)	0,83 (0,50-1,10)	<0,001
Annualisierte Schubrate		1,52 (±1,8)	0,94 (±1,07)	<0,001
Verlaufsform im FU-1	CIS	99 (42,3%)	26 (30,2%)	0,05
	RRMS	135 (57,7%)	60 (69,8%)	
Verlaufsform im FU-6	CIS	8/139 (5,8%)	1/54 (1,9%)	0,506
	RRMS	128/139 (92,1%)	54/54 (96,3%)	
	SPMS	3/139 (2,2%)	1/54 (1,9%)	
DMT-Switch zw. FU-2 und FU-4				0,629
	∅ → ↑	11/141 (7,8%)	5/49 (10,2%)	
	∅ → ↑↑	5/141 (3,5%)	0	
	↑ → ↑	51/141 (36,2%)	18/49 (36,7%)	
	↑ → ↑↑	20/141 (14,2%)	5/49 (10,2%)	
	↑↑ → ↑	2/141 (1,4%)	0	
	↑↑ → ↑↑	52/141 (36,9%)	21/49 (42,9%)	
DMT-Switch zw. FU-2 und FU-6				0,56
	∅ → ↑	6/122 (4,9%)	2/33 (6,1%)	
	∅ → ↑↑	8/122 (6,6%)	0	
	↑ → ↑	36/122 (29,5%)	8/33 (24,2%)	
	↑ → ↑↑	24/122 (19,7%)	8/33 (24,2%)	
	↑↑ → ↑	0	0	
↑↑ → ↑↑	48/122 (39,3%)	15/33 (45,5%)		
DMT-Switch zw. FU-4 und FU-6				0,788
	∅ → ↑	0	0	
	∅ → ↑↑	0	0	
	↑ → ↑	41/122 (33,6%)	10/33 (30,3%)	
	↑ → ↑↑	9/122 (7,4%)	4/33 (12,1%)	
	↑↑ → ↑	1/122 (0,8%)	0	
↑↑ → ↑↑	71/122 (58,2%)	19/33 (57,6%)		

Abkürzungen: DMT, verlaufsmifizierende Therapeutika (eng.: disease-modifying therapies); FU, Weiterverfolgung (eng.: Follow-up); PIRA, Progression unabhängig von Schüben (eng.: Progression Independent of Relapse Activity); sNFL, das Protein Neurofilament Light Chain (eng.: Neurofilament light chain).
∅: keine Therapie, ↑: Plattform-Therapeutika (Interferone, Glatirameracetat, Teriflunomid, Dimethylfumarat), ↑↑: Aktive Therapeutika (Natalizumab, Rituximab, Fingolimod, Ocrelizumab, Daclizumab, Alemtuzumab und Mitoxantrone)
Zwecks Normalisierung der Schiefe wurde die Logarithmierung der sNFL-Werte angewandt.

4.4. Multivariable Analyse: FRS als prognostischer Marker für den klinischen Endpunkt „PIRA“ als Substrate für die kardiovaskulär-bedingte Krankheitsprogression in MS

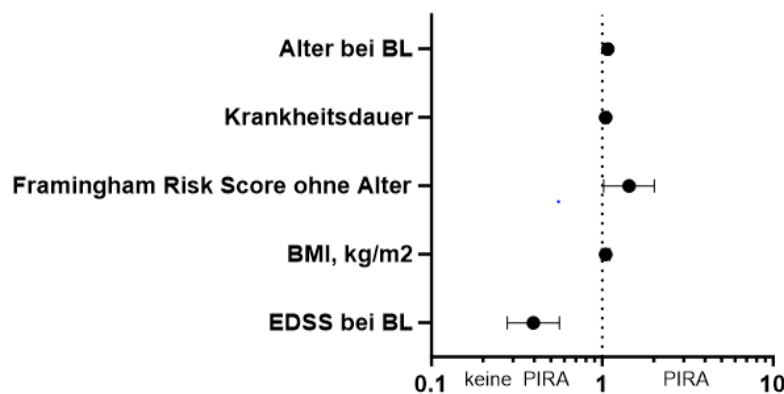
Nach der ausführlichen Charakterisierung von unterschiedlichen Facetten der Kohorte führten wir multiple logistische Regressionsanalysen durch. Im Hinblick auf die signifikante Assoziation des FRS in Prozent mit der späteren Entwicklung einer PIRA berechneten wir zunächst eine adaptierte Score ohne Berücksichtigung des Alters, um den Confounder-Effekt des Alters einzuschätzen, da das Alter im FRS als Kodeterminante mitenthalten war. Dies war die Grundlage unserer ersten Regressionsanalyse (s. Tabelle 6, Abbildung 2). Obwohl sich die Gruppen hinsichtlich des durchschnittlichen Body-Mass-Index (BMI) nicht signifikant voneinander unterschieden, nahmen wir diesen Parameter dennoch in die Analyse auf, da mehrere Studien den Effekt von Adipositas auf den Krankheitsverlauf belegten [98], [99].

Tabelle 6: Logistisches Regressionsmodell I bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation

Variable	Odds Ratio	95% CI	p-value
BMI, kg/m ²	1,048	0,991-1,107	0,101
EDSS bei BL	0,395	0,278-0,561	<0,001
Krankheitsdauer	1,046	1,007-1,086	0,019
FRS ohne Alter	1,434	1,018-2,020	0,039
Alter bei BL	1,076	1,044-1,109	<0,001

Abkürzungen: BL, Baseline; BMI, Body-Mass-Index; CI, Konfidenzintervall; EDSS, Expanded Disability Status Scale; FRS, Framingham Risk Score; PIRA, Progression unabhängig von Schüben (eng.: Progression Independent of Relapse Activity)

Abbildung 2: Logistisches Regressionsmodell I bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation



In diesem Modell zeigten alle Variablen außer der BMI einen statistisch signifikanten Regressionskoeffizienten, die die Entwicklung von PIRA vorhersagen konnten. Bei dem FRS ohne Alter in Prozent eine OR von 1,434 aufwies (95% CI [1,018; 2,020], $p = 0,039$). In der Abbildung 2 wurden die ORs bei unabhängigen Prädiktoren von PIRA bei Patient*innen mit MS unter Anwendung eines 95%-CI dargestellt.

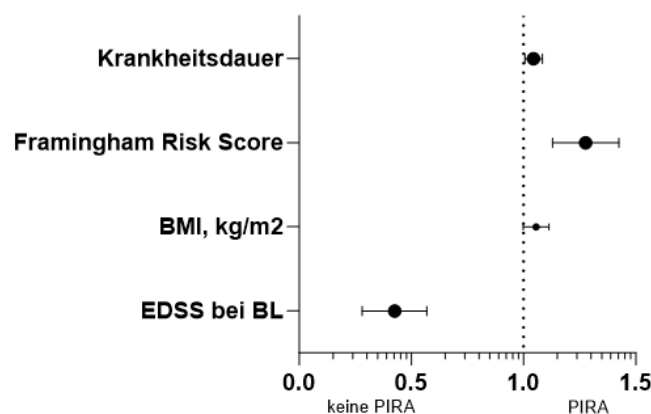
In einem zweiten Regressionsmodell verwendeten wir den klassischen FRS in Prozent, wie im Kapitel über Methodologie beschrieben, mit dem Alter als Ko-Determinante, wonach das Alter zur Vermeidung von Interaktionseffekten (=Confounding) aus der Analyse ausgeschlossen wurde.

Tabelle 7: Logistisches Regressionsmodell II bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation

Variable	Odds Ratio	95% CI	p-Wert
BMI, kg/m ²	1,055	0,999-1,114	0,53
EDSS bei BL	0,409	0,290-0,577	<0,001
Krankheitsdauer	1,044	1,006-1,084	0,21
FRS inkl. Alter	1,271	1,132-1,427	<0,001

Abkürzungen: BL, Baseline; BMI, Body-Mass-Index; CI, Konfidenzintervall; EDSS, Expanded Disability Status Scale; FRS, Framingham Risk Score; PIRA, Progression unabhängig von Schüben (eng.: Progression Independent of Relapse Activity)

Abbildung 3: Logistisches Regressionsmodell II bzgl. Faktoren mit PIRA-Assoziation



In diesem zweiten Regressionsmodell (s. Tabelle 7, Abbildung 3) verblieben EDSS bei BL (OR = 0,409, 95% CI [0,290; 0,577], $p < 0,001$ und FRS inkl. Alter (OR = 1,271, 95% CI [1,132; 1,427], $p < 0,001$) als signifikante Regressionskoeffizienten. In der

Abbildung 3 wurden die ORs bei unabhängigen Prädiktoren von PIRA bei Patient*innen mit MS unter Anwendung eines 95%-CI dargestellt.

In beiden multiplen Regressionsmodellen verblieb der FRS neben dem EDSS-Score bei Baseline als unabhängiger Prädiktor für die Entwicklung von PIRA (Odd's Ratio 1,434; Konfidenzintervall 1,018-2,2020, $p= 0,039$ bzw. Odd's Ratio 1,271; Konfidenzintervall 1,132-2-1,427, $p< 0,001$). Somit konnten wir den Beitrag der kardiovaskulären Gesamtbelastung als unabhängigen Risikofaktor für die unaufhaltsame, schubunabhängige Behinderungsakkumulation belegen.

4.5. Univariate Analyse der Kohorte mit jährlicher Schubrate als klinischer Endpunkt

Eine weitere Analyse zielte darauf ab, die Charakteristika der Kohorte im Hinblick auf die jährliche Schubrate zu beschreiben. Hierfür erfolgte eine univariate Regressionsanalyse (s. Tabelle 8) sowie eine R-Korrelation für die dichotomisierbaren Parameter (s. Tabelle 9). Signifikante Unterschiede ergaben sich hierbei nur mit Bezug auf das Alter (Odd's Ratio -0,32, $p < 0,01$) sowie der sNFL-Spiegel im Follow-Up-Jahr 2 (Odd's Ratio 0,319, $p= 0,04$). Diese Konstellation war somit übereinstimmend mit der aus der Literatur bekannten Annahme der Erkrankung, dass die entzündliche Aktivität in der Frühphase der Erkrankung bzw. bei den jüngeren Patient*innen den führenden Treiber darstellt. Während die sNFL-Spiegel eine positive Korrelation mit der Schubrate aufwies, war eine negative Korrelation zwischen dem Alter und der jährlichen Schubrate zu zeigen. Eine Assoziation mit dem kardiovaskulären Risiko war hinsichtlich der jährlichen Schubrate allerdings nicht zu beweisen.

Tabelle 8: Ergebnisse der univariablen Regressionsanalyse diverser Faktoren in Relation zur jährlichen Schubrate

Variables	Odds Ratio	R ²	p-Wert
sNFL bei Baseline	0,26	<0,0001	0,426
sNFL im FU2	0,319	0,1	0,04
sNFL FU2/BL-Quotient	0,06	<0,0001	0,428
Alter bei BL	-0,32	0,037	<0,01
Krankheitsdauer bei BL	0,006	0,001	0,632
BMI	0,005	<0,0001	0,783
FRS	-0,65	0,14	0,36
EDSS bei BL	-0,02	<0,0001	0,83

Abkürzungen: BMI, Body-Mass-Index; BL, baseline; FU, Follow-Up; EDSS, Expanded Disability Status Scale FRS, Framingham Risk Score; sNFL, serum neurofilament light chain

Tabelle 9: Ergebnisse der R-Korrelation von diversen Faktoren in Relation zur jährlichen Schubrate

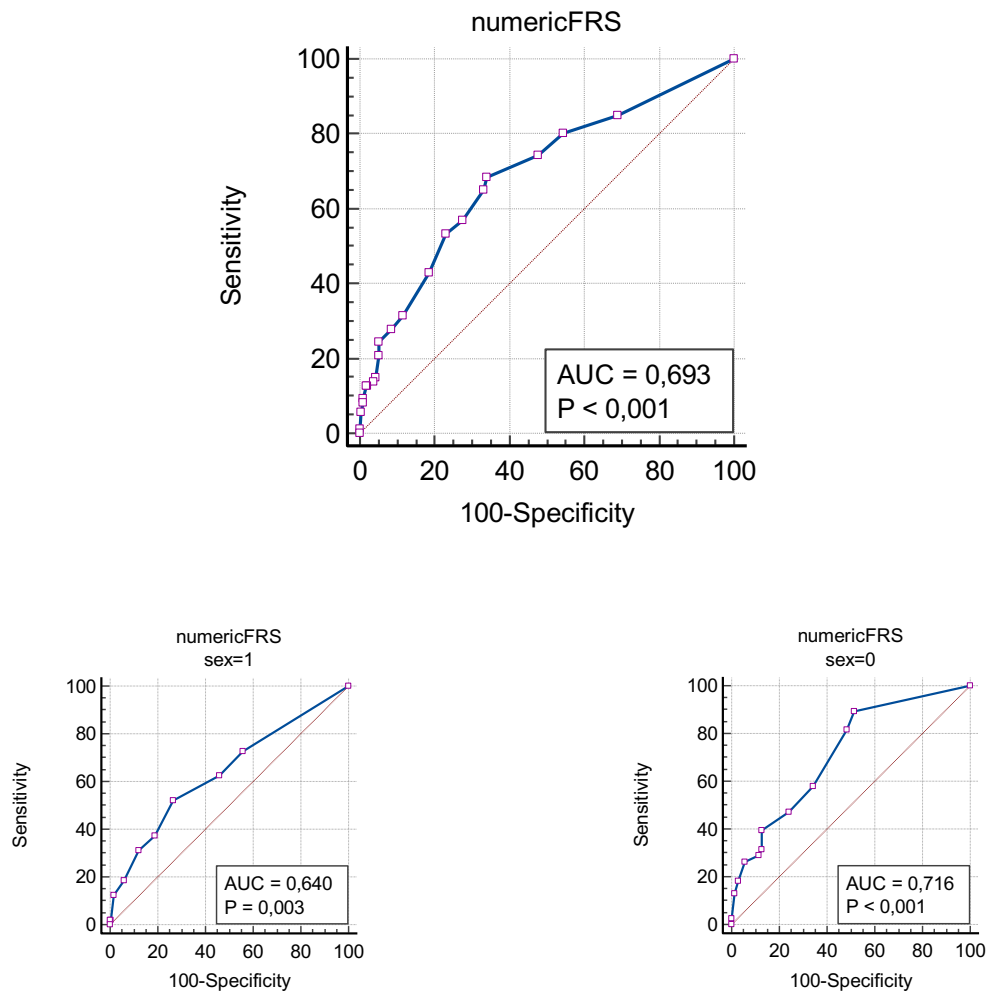
Variables	p-wert	95%-Konfidenzintervall		r
Weibliches Geschlecht	0,006	0,44	0,258	0,153
Nachweis von OKBs	0,43	-0,76	0,178	0,052
Adipositas	0,332	-0,55	0,163	0,54
Arterielle Hypertonie	0,796	-0,95	0,124	0,14
Diabetes mellitus	0,396	-0,62	0,156	0,48
Hypercholesterinämie	0,972	-0,108	0,111	0,002
Rauchen	0,541	-0,143	0,076	-0,34

Abkürzungen: OKB, oligoklonale Banden

4.6. ROC-Analyse: Kardiovaskuläres Risikoprofil als Vorhersagemerkmal von PIRA und sein Effekt in geschlechtsspezifischer Gegenüberstellung

Um die Vorhersagekraft vom FRS bzgl. der Entwicklung von PIRA näher zu untersuchen, führten wir eine Receiver Operating Characteristic (ROC)- Analyse durch. Hierbei zeigte der FRS eine AUC von 0,693 (95% CI 0,577 - 0,782, $p < 0,001$) mit einem Cut-Off-Wert in Höhe von 2,00% (Youden-Index). Dieser Effekt war in einer geschlechterspezifischen Analyse weiterhin feststellbar, wobei sich dieser bei männlichem Geschlecht stärker ($p < 0,001$, AUC: 0,716, 95% CI 0,616 - 0,812) als bei Frauen ($p = 0,003$, 95% 95% CI 0,543 - 0,742 AUC: 0,640) zeigte. Unter Anwendung von anderen Cut-Off-Werten mit einer höheren Spezifität (FRS i.H.v. 3,3% mit einer Spezifität v. 81% bzw. Sensitivität v. 43% sowie FRS i.H.v. 4,5% mit einer Spezifität v. 92% bzw. Sensitivität v. 28), und vor dem klinischen Hintergrund, dass der Identifizierung von „richtig-negativen“ - bzw. den Patient*innen, die „nicht“ mit einer höheren Vulnerabilität hinsichtlich der MS-Progression durch ihr kardiovaskuläres Profil konfrontiert waren - eine größere Bedeutung zuzuschreiben ist, zeigte sich, dass sich die Unterschiede zwischen den Niedrig- und Hoch-Risiko-Gruppen akzentuierten, mit Hinblick auf das Risiko von PIRA als klinischen Endpunkt.

Abbildung 4: ROC-Kurven zur Analyse des kardiovaskulären Risikos als Vorhersagemerkmal von PIRA



Abkürzungen: AUC, Fläche unter der Kurve (eng.: area under the curve); FRS, Framingham Risk Score; sex=1, weibliches Geschlecht; sex=0, männliches Geschlecht; ROC, Grenzwertoptimierungskurve (eng: receiver operating characteristic)

4.7. FRS als Tool zur Patientenstratifizierung hins. des Risikos für die Entwicklung von PIRA

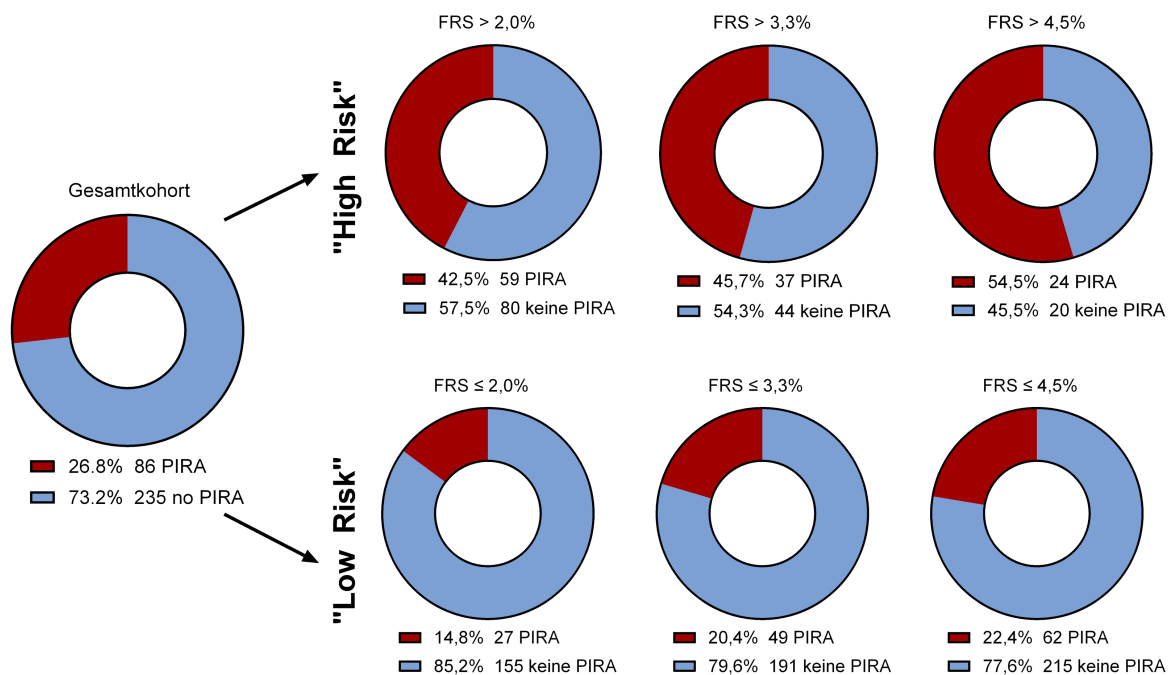
Darüber hinaus ist der FRS ein wertvolles Instrument, um Patient*innen mit einem hohen Risiko für kardiovaskulär bedingte Neurodegeneration und PIRA zu identifizieren. Die Prävalenz von PIRA in unserer Kohorte beträgt 26,8 %, steigt aber auf 42,5 % an, wenn ein FRS-Cut-off-Wert von >2,0 % verwendet wird (s. Tabelle 10). Das Stratifikationspotenzial des FRS ist unabhängig des Alters. Regressionsmodelle, die den FRS und das Alter gleichzeitig einbeziehen, zeigen ein Odd's Ratio von 1,27 (95% CI 1,13-1,42, p < 0,001). Regressionsmodelle, die das Alter in die Berechnung des FRS nicht miteinbeziehen, zeigen ein Odd's Ratio von 1,27 (95% CI 1,13-2,42, p

< 0,001. Somit korrelierten die anhand des FRS quantifizierte kardiovaskuläre Gesamtbelastung in beiden Regressionsszenarien positiv mit dem Risiko von PIRA. Unter Verwendung von höheren FRS-Cut-off-Werten mit höherer Spezifität aber niedrigerer Sensitivität stellt sich die oben genannte Tendenz in gleicher Weise, aber stärker, dar.

Tabelle 10: Vergleich von verschiedenen FRS-Cut-Off-Werten in Relation zum Risiko von PIRA

FRS cut-off Wert	Sensitivität	Spezifität	Präzision
> 2.0%	69%	66%	67%
> 3.3%	43%	81%	71%
> 4.5%	28%	92%	75%

Abbildung 5: Kohortenstratifizierung anhand verschiedener FRS-Cut-Off-Werten zwecks Identifizierung des PIRA-Risikos



4.8. Kohortenanalyse anhand unterschiedlicher FRS-Cut-off-Werte mit Hirnatrophie als klinischen Endpunkt

Darüber hinaus integrierten wir die oben genannten Cut-Off-Werte als Grundlage für die Analyse der Atrophiezeichen in den angefertigten MRT-Untersuchungen, deren

Assoziation mit vaskulären Begleiterkrankungen in mehreren Studien gezeigt werden konnte [100], [101]. Unabhängig davon, welcher Cut-Off-Wert der durchgeführten statistischen Analyse zugrunde lag, zeigte sich hierbei eine erhöhte Rate an Patient*innen mit Zeichen der Hirnatrophie in der Patientengruppe mit höheren FRS-Werten.

Tabelle 11: Zeichen von Hirnatrophie in Assoziation mit dem kardiovaskulären Risiko und nach verschiedenen FRS-Cut-Off-Werten

Atrophiezeichen (Cut-Off 2%)	≤ 2%	> 2%	p-wert
BL	8,6% (n: 140)	22,5% (n: 111)	0,002
FU-1	12,8% (n: 141)	29,9% (n: 117)	<0,001
FU-2	15,4% (n: 136)	34,6% (n: 107)	<0,001
FU-4	20,8% (n: 96)	36% (n: 86)	0,023
FU-6	20,7% (n: 121)	41,2% (n: 102)	<0,001
Atrophiezeichen (Cut-Off 3,3%)	≤ 3,3%	> 3,3%	p-wert
BL	11,6% (n: 189)	24,2% (n: 62)	0,016
FU-1	16,6% (n: 193)	32,3% (n: 65)	0,007
FU-2	19,1% (n: 183)	38,3% (n: 60)	0,002
FU-4	26,1% (n: 134)	33,3% (n: 48)	0,34
FU-6	25,2% (n: 163)	43,3% (n: 60)	0,009
Atrophiezeichen (Cut-Off 4,5%)	≤ 4,5%	> 4,5%	p-wert
BL	12,6% (n: 215)	27,8 (n: 36)	0,017
FU-1	16,7% (n: 222)	44,4% (n: 36)	<0,001
FU-2	20,9% (n: 211)	43,8% (n: 32)	0,005
FU-4	27,4% (n: 157)	32% (n: 25)	0,633
FU-6	27,5% (n: 189)	44,1% (n: 34)	0,052

Abkürzungen: BL, Baseline; FRS, Framingham Risk Score; FU, Weiterverfolgung (eng.: Follow-up)

5. Diskussion

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem Phänomen der kardiovaskulär-bedingten Behinderungsakkumulation bei Patient*innen mit MS und setzt sich mit den Schub-bedingt und den Schub-unabhängigen Progressionsmechanismen der Erkrankung auseinander. Hier zeigt sich, dass die kardiovaskuläre Gesamtbelastung, hier quantifiziert anhand FRS, auf PIRA, der degenerativen Komponente der Erkrankung, einen prognostisch ungünstigen Effekt ausübt. Eine ähnliche Korrelation war unter Anwendung der jährlichen Schubrate als klinischer Marker für die entzündliche Komponente der Erkrankung allerdings nicht zu beobachten.

Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt mittels Verwendung von spezifischen FRS-Cut-off-Werten zur Patientenstratifizierung verstärkt wird und der FRS insbesondere bei Patient*innen mit vergleichsweise höherem kardiovaskulären Profil ein wertvolles Screening-Instrument für die Entwicklung von schubunabhängiger Behinderung (PIRA) darstellt.

Dementsprechend unterschieden sich die Raten an Hirnatrophie von Patient*innen signifikant voneinander, wenn zuvor die oben definierten FRS-Cut-off-Werte zur Kohortenstratifizierung verwendet wurden.

Die PIRA und die Hirnatrophie sind vornehmlich als Merkmale der degenerativen Komponente der Erkrankung anzusehen. Ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil zeigte sich als ein negativer prognostischer Faktor für die Entwicklung einer PIRA und Hirnatrophie. Dies zeigte sich sowohl klinisch als auch radiologisch.

Mit Hilfe eines dualen Regressionsmodells erweist sich die kardiovaskuläre Gesamtbelastung unter Berücksichtigung des Patientenalters und auch unabhängig dessen als ein relevanter Risikofaktor einer PIRA. Insofern lässt sich die Korrelation des FRS mit der PIRA nicht alleinig durch den Alterseffekt erklären. Dennoch bleibt anzumerken, dass die demografische Komposition der PIRA-Kohorte einer im Vergleich älteren Patientenkohorte entspricht, die außerdem durchschnittlich eine längere Krankheitsdauer aufweist.

Die bisherigen Studien, welche die Assoziation von kardiovaskulären Komorbiditäten mit klinischen Outcomes bei MS untersuchten, lieferten gemischte Ergebnisse. Eine italienische Studie, welche ebenfalls das Framingham-Modell als Instrument zur Kohortenstratifizierung verwendete, konnte zeigen, dass ein höheres kardiovaskuläres Risiko mit einem höheren Risiko für klinische Schübe sowie Therapieeskalation bei MS assoziiert war [77]. In unserer Arbeit zeigte sich demgegenüber keine statistisch signifikante Assoziation zwischen kardiovaskulärem Risiko und annualisierter Schubrate. Die Entscheidungen bezüglich einer eventuellen Therapieeskalation beruhen in unserer Kohorte vornehmlich auf den Ausprägungen der inflammatorischen Aktivität der Erkrankung. In dieser Hinsicht scheint die PIRA eine untergeordnete Rolle zu spielen. Allerdings könnte dies unter anderem auch dem Mangel an effektiven Medikamenten zur Behandlung der degenerativen Komponente der Erkrankung geschuldet sein.

In einer rezenten Metaanalyse von drei Phase-III-Studien über DMTs bei MS, die insgesamt nahezu 17.000 Patient*innen umfasste, zeigten kardiovaskuläre Begleiterkrankungen keine signifikante Assoziation mit der Schubaktivität, während hingegen das Vorhandensein von mindestens zwei kardiovaskulären Erkrankungen mit einer schnelleren Behinderungsakkumulation einherging [102]. Diese Tendenz konnten wir in unserer Arbeit bestätigen, dass ein anderweitig, nämlich unter Anwendung vom FRS, quantifiziertes kardiovaskuläres Risiko die Entwicklung von PIRA in zwei unterschiedlichen Regressionsmodellen vorhersagen konnte.

Die analytische Herangehensweise dieser Arbeit unterscheidet sich von ähnlichen Arbeiten in der Literatur vor allem dadurch, dass die PIRA als klinisches Korrelat für die neurodegenerative Komponente der Erkrankung in Relation zum kardiovaskulären Risikoprofil gesetzt wurde.

Insbesondere dadurch, dass die Verwendung von spezifischen FRS-Cut-off-Werten der Identifizierung von MS-Patient*innen dient, welche ein vergleichsweise höheres Risiko haben, eine kardiovaskulär-bedingte Behinderungsakkumulation zu erleiden, können besonders vulnerable Patientengruppen unter der Anwendung des Framingham-Modells rechtzeitig erkannt werden. Das könnte maßgeschneiderte Lebensstilinterventionen für diese Patient*innen ermöglichen, wodurch die progressive

Komponente der Erkrankung - in Anbetracht mangelnder Therapeutika - effektiv gebremst werden könnten.

*

Im Folgenden wird dargestellt welche pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und der Krankheitsaktivität bei Multipler Sklerose bestehen. Eines der pathophysiologischen Merkmale der MS-Plaques ist der Zusammenbruch der BHS [103], welche unter physiologischen Bedingungen zum Schutz des Hirnparenchyms den Eintritt von Immunzellen durch die hierfür spezialisierten Endothelzellen einschränkt [104]. Die Integrität der BHS wird durch diverse Genetik- und Umweltfaktoren beeinflusst. In Tiermodellen der MS, wie der experimentellen autoimmune Enzephalomyelitis (EAE), nehmen die peripheren encephalitogenischen Lymphozyten bereits in den Lungen ein invasives, chemokines Profil an, bevor die Infiltration des ZNS stattfindet, zudem zeigten sich mittels Whole-Transcriptome-Sequencing der CD-31-angereicherten Hirnendothelzellen eine Upregulation jener Genen, die für die Lungenendothelzellen charakteristisch sind [105]. Darüber hinaus existieren nikotinassoziierte Veränderungen der zerebrovaskulären Reaktivität, welche durch die Modifizierung der Expression von den zerebralen Zonula occludens eine Zunahme der Permeabilität der BHS zur Folge haben kann [106], [107]. Der bekannteste, mit einer mikrovaskulären Dysfunktion assoziierte Risikofaktor des Rauchens lässt sich auf zellulärer Ebene im Hinblick auf die Krankheitsprogression der MS unter anderem hierdurch erklären.

Der Effekt der diätetischen Präferenzen auf die Integrität der BHS resultiert aus der Förderung eines gestörten Mikrobioms sowie der Adipositas, welche wiederum durch eine low-grade Inflammation mit einer Zunahme der BHS-Permeabilität einhergeht [108]. Die Adipositas fördert zudem die mikrogliale- und astrozytäre Aktivierung und führt somit zu Veränderungen der Zelladhäsionsmolekülen und des oxidativen Stress auf die BHS [108]. Diese pathologischen Vorgänge münden letztlich in einer Störung des sogenannten „neurovaskulären Coupling“, was auf zellulärer Ebene restriktive Auswirkungen auf das ideale Milieu der Neuronen hat und einen klinischen Effekt unter anderem auf die Kognition ausübt [109].

Aufgrund der Schwierigkeit bei bestehenden radiologischen Merkmalen einer entzündlichen ZNS-Erkrankungen wie der MS, einen Zusammenhang zwischen systemisch vaskulären Erkrankungen und der zerebralen Mikroangiopathie (cSVD: cerebral small vessel disease) unter Anwendung von in vivo radiologischen Markern, wie erweiterter perivaskulärer Räume (PVS: perivascular space) und Signalalterationen im Marklager der MRT, herzustellen [110], werden histopathologischen Post-mortem-Untersuchungen eine wichtige Rolle zugeschrieben:

Eine Post-mortem Kohorte von 85 Patient*innen, die an einer MS erkrankt waren, wurde zu diesem Zweck zunächst anhand von atherosklerotischen Veränderungen im Bereich von Aorta sowie den Koronararterien, hypertensiver Herzerkrankung, Myokardinfarkt und ischämischen Schlaganfall einer Risikostratifizierung unterzogen. Die hierbei berechneten individuellen Punktwerte wurden dann vor den weiteren histopathologischen Untersuchungen zur Patientenselektion angewendet. Hiernach wurde zunächst eine weitere Beurteilung, welche die Belastung an cSVD widerspiegelte, anhand von diversen Faktoren (Vorhandensein und/oder Ausprägung von Arteriosklerose, PVS-Dilatation, Mikroinfarkte, Mikrohämmorrhagien und Hämosiderin-Leckage) kalkuliert. Schlussendlich wurde die Relation zwischen den genannten Scores und der MS-assoziierten Pathologie untersucht, während die weiteren Analysen in der Kontrollgruppe den Effekt des individuellen Krankheitsstatus auf die berechneten Scores untersuchten:

Hierbei ergaben sich zwei richtungsweisende Ergebnisse. Zum einen war die Belastung durch cSVD in der MS-Gruppe ausgeprägter, welche mehrheitlich Patient*innen beinhalte, die im Vergleich zur Kontrollgruppe in jüngeren Lebensjahren verstarben. In dieser Gruppe zeigte sich zum anderen eine stärkere Assoziation zwischen systemischer Atherosklerose und cSVD. Schlussfolgend sprach diese Konstellation dafür, dass die cSVD den kausalen Zusammenhang zwischen den vaskulären Komorbiditäten und der beschleunigten Behinderungsakkumulation bei MS darstellen könnte ohne, dass den beiden klinischen Problemen der gleiche „Trigger“ zugrunde lag [111].

Im Hinblick auf die dilatierten PVS als mögliche Marker von vaskulären Erkrankungen, der MS sowie von Alterungsprozessen wurde neuerdings eine Dysfunktion des glymphatischen Systems als mögliche Ursache dieser Veränderungen im ZNS postuliert [112]. Eine kürzlich erschienene Arbeit, welche die Relation von PVS und BHS-Permeabilität in der Inflammation des peripheren und zentralen Nervensystems bei cSVD untersuchte, konnte zeigen, dass die Neuroinflammation zu der Entstehung von PVS im ZNS beitrug [113].

Es gibt zudem Hinweise für überlappende Mechanismen, die sich sowohl an den kardiovaskulären Ereignissen, wie der koronaren Herzerkrankung (KHK), als auch an der Inflammation beteiligen: Der inflammatorische Biomarker CHI3L1 (Chitinase-3-like protein 1) war bei beiden klinischen Bildern erhöht, was wiederum die Rolle von vaskulären Erkrankungen in der MS-Progression bekräftigt [114].

Eine der wichtigsten Determinanten des vaskulären Risikos mit einem erheblichen Einfluss sowohl auf die cSVD als auch auf die systemische Atherosklerose ist die Fettstoffwechselstörung, sodass den metabolischen Aspekten dieses komplexen Zusammenspiels im Bereich der MS auch viel Interesse geschenkt wurde. Eine prospektive Studie konnte eine Korrelation von geringeren Verlusten an Hirnvolumen mit der Erhöhungen von High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterin und Apolipoprotein A-I (ApoA-1)-Spiegeln zeigen und somit protektive Effekte im Hirngewebe beschreiben, während hingegen der Anstieg von LDL-Cholesterin (Low Density Lipoprotein) mit neuen T2-Läsionen im MRT korrelierte [115].

Die Ergebnisse unserer Arbeit sind somit im Gleichklang mit den oben diskutierten pathophysiologischen Vorgängen: ein höherer FRS-Score spiegelt u.a. das Risiko für cSVD wider, welche den mechanistischen Link zu der Schub-unabhängigen Progression von MS darstellt.

Die MS entsteht auf dem Boden eines dualen Kontinuums bestehend aus einer fortschreitenden inflammatorischen und neurodegenerativen Komponente. Eine suboptimale Kontrolle der kardiovaskulären Komorbiditäten trägt dazu bei, dass sich die Progression der Erkrankung beschleunigt. Obgleich es hierzu keine feste Evidenz gibt, könnte die höhere Vulnerabilität des Hirngewebes für cSVD bei MS diese

Korrelation erklären [101]. In Anbetracht der Verbindung zwischen der cSVD und den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren sowie des Verhältnisses von MS-Progression und kardiovaskulärem Risiko ist dafür zu plädieren, dass ein strengeres Screening für kardiovaskulären Risikofaktoren sowie ein effektives Management dieser in sämtlichen Altersklassen der MS-Patient*innen als ein fester Bestandteil der Behandlung betrachtet wird.

Die Optimierung des Patientenmanagements bezüglich einer effizienteren Prävention eines erhöhten kardiovaskulären Risikoprofils setzt eine rechtszeitige Identifizierung dieser Risikofaktoren voraus. Die gängigen Risikoeinschätzungsinstrumente, die dazu dienen, das 10-Jahres-Risiko makroangiopathischer Ereignisse vorherzusagen, sind nur bedingt für jüngere Menschen geeignet. Neben dem Alter orientieren sie sich an den apparenten Risikofaktoren, insofern sind sie durch eine gewisse Insuffizienz gekennzeichnet, was eine frühe Identifizierung von „okkulten“ Risikofaktoren anbelangt.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass kardiovaskuläre Komorbiditäten bei MS als negativ-prognostisches Anzeichen betrachtet und mit Hilfe eines multimodalen Krankheitsmanagements behandelt werden sollten. Je effektiver die Komorbiditäten behandelt werden können, desto später entwickelt sich die Phase, in der die Wirksamkeit von DMTs nicht mehr ausreicht, die unaufhaltsame Krankheitsprogression zu verlangsamen. Darüber hinaus sollte diesbezüglich auch die Reversibilität der cSVD betont werden: In einem tierexperimentellen Modell ging das Wiedererlangen der Endothelfunktion, einem der wichtigsten Mechanismen bei cSVD, mit einer Reduktion der Marklagervulnerabilität einher [116]. Da eine bilaterale Beziehung zwischen der ZNS-Inflammation und der zerebralen Mikroangiopathie besteht und kardiovaskuläre Risikofaktoren - vor allem ein Diabetes mellitus - zu einer Steigerung der Suszeptibilität des ZNS gegenüber oxidativen Stress [117] und mikrovaskulären Veränderungen zu einer Netzwerkstörung innerhalb des ZNS führen können [118], könnten sich zukünftige Arbeiten der Entwicklung von effektiven, diesen Circulus vitiosus unterbrechenden Behandlungsstrategien widmen.

Inwieweit zwischen vaskulären Pathologien und MS eine kausale Beziehung besteht, stellt ein komplexes und bislang unvollständig verstandenes Thema dar. Die bisherigen Arbeiten lieferten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Erwähnenswert

ist unter anderem eine Phase-II Studie aus dem Jahr 2014 [119]: Es wurden insgesamt 140 SPMS-Patient*innen 1:1 randomisiert, wonach der Effekt von Simvastatin, einem HmG-CoA-Reduktase-Hemmer mit immunmodulatorischen und neuroprotektiven Eigenschaften, auf den klinischen Endpunkt einer jährlichen Hirnatrophie untersucht wurde. Die molekularbiologische Basis des angewandten Studiendesigns bildeten unter anderem die Cholesterin-abhängigen Effekte dieser Substanzklasse in den Tiermodellen, in denen eine Hemmung der T-Zell-Aktivierung sowie eine Verlagerung von den proinflammatorischen Th1- zu Th2-Phenotypen nachweislich waren [120]. Außerdem wurde von einer Verbesserung der zerebrovaskulären Dynamik als zusätzlichen Vorteil unter Statin-Therapie ausgegangen, welche als Grundlage eines möglichen neuroprotektiven Effektes bei fortgeschrittener MS angesehen wurde. Der klinische Endpunkt im Sinne einer Reduktion von Hirnatrophie konnte zwar erreicht werden, während hingegen die Translation dieses Effektes in die klinische Betroffenheit unklar war. Darüber hinaus unterschieden sich die zwei Gruppen hinsichtlich der T2-Läsionslast nicht signifikant voneinander. Ebenfalls unwirksam war die Statin-Gabe in der Reduktion aufgesetzter klinischer Schübe.

Es erfolgte dennoch eine darauffolgende Phase-III-Studie (NCT03387670), die als primären Endpunkt die Behinderungszunahme nach 4 Jahren untersuchte. Diese lieferte indes keine signifikanten Unterschiede, die eine Überlegenheit der Intervention mittels Statin-Gabe bewiesen [121].

Eine sekundäre Analyse dieser Phase-III-Studie [101] erbrachte allerdings doch erfolgsversprechende Befunde: Hierbei wurde zunächst eine kardiovaskuläre Risikostratifizierung anhand der QRISK3-Skala vorgenommen, welche die Kalkulation des Risikos ermöglicht, wie viel frühzeitiger ein Individuum das Risiko eines älteren Menschen durch die vaskulären Erkrankungen erreicht (definiert als „Heart-Age“). Die hier vorgenommene statistische Analyse zeigte eine starke Assoziation eines niedrigen Heart-Age mit einem normalisierten Hirnvolumen (NBV).

Eine Arbeit aus der Grundlagenforschung, die den Effekt von Statin-Präparaten auf das MS-Risiko sowie Schwere der Erkrankung untersuchte, schrieb diesen Effekt den Cholesterin-unabhängigen Vorgängen zu [122].

Anlehnend an pathologischen Vorgängen des Fettstoffwechsels und einem potentiellen Zusammenhang mit Krankheitsverläufen der MS ist die Rolle von Ceramiden hervorzuheben. Diese rückten in den letzten Jahren vermehrt in den Vordergrund zur Stratifizierung von Risikopatient*innen kardiovaskulärer Erkrankungen [123]. Interessanterweise sind bestimmte lipidomische Profile der zerebrospinalen Flüssigkeit von MS Patient*innen beschrieben, die reich an den Ceramiden C16:0 und C24:0 sind und sich somit von gesunden Probanden unterscheiden [124]). Die in vitro Exposition von neuronalen Kulturzellen mit diesen Ceramiden oder dem Liquor von MS Patient*innen war assoziiert mit erhöhtem metabolisch-oxidativen Stress. Die Möglichkeit einer kausalen Verbindung zwischen erhöhter Konzentration an Ceramiden im Serum als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und das erhöhte Vorkommen von bestimmten Ceramiden im Liquor von MS Patient*innen ist angesichts der Bedeutung von Blut-Hirn-Schrankenstörungen für die MS ein attraktiver pathomechanistischer Erklärungsansatz, welches weitere präklinische Arbeiten bedarf.

Eine Reihe von homöostatischen und pathophysiologischen Mechanismen innerhalb des ZNS werden durch Astrozyten und Mikroglia-Zellen angesteuert. Eine transkriptionelle Analyse der Letzteren bei MS-Patient*innen wies sowohl im Bereich des gesund aussehenden Marklagers (NAWM) als auch in der grauen Substanz (NAGM) Veränderungen der Lipid-exprimierenden Genen nach [125]. Diese Veränderungen scheinen, im Kontext der PIRA, auf die fortlaufenden neuroaxonalen Schädigungen zurückzuführen [126], an welchen sich schädliche Vorgänge wie beispielsweise oxidativer Stress beteiligen. Auch wenn die eindeutigen pathophysiologischen Zusammenhänge aus Sicht der Grundlagenforschung hinsichtlich des mechanistischen Zusammenspiels von MS und vaskulären Erkrankungen nicht mit letzter Sicherheit zu identifizieren sind, erscheint die PIRA als Substrat dieser dynamischen Veränderungen bei MS plausibel.

*

In den letzten drei Jahrzehnten seit der Zulassung von Glatirameracetat (Copaxone®) als erstes verlaufsmodifizierendes Therapeutikum bei MS im Jahr 1994 gab es hinsichtlich der Entwicklung von neuen DMTs enorme Fortschritte. Mittlerweile stehen

für die Behandlung von RRMS über 20 Präparate zur Verfügung, welche eine maßgeschneiderte Behandlung für die betroffenen Patient*innen ermöglichen und den Erhalt ihrer Lebensqualität durch effektive Krankheitskontrolle gewährleisten. Die aktuell verfügbaren Therapeutika zielen allerdings nahezu ausschließlich auf eine Unterdrückung der inflammatorischen Komponente der Erkrankung ab. Aus diesem Blickwinkel kommt den - gemäß den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) zu erwägenden Therapieoptionen (Siponimod, Beta-Interferonen, Cladribin und CD20-Antikörpern) bei SPMS - eine klinische Bedeutung zu, da sich die Wirksamkeit dieser Therapeutika auch auf die „aktive“ Komponente (d.h. aufgesetzte Schübe) zu beziehen scheint. Die Datenlage ist hinsichtlich der Therapien bei nicht-aktiver SPMS dünn und die aktuellen Empfehlungen basieren auf einzelne Kohortenstudien [127]. Insofern ist eine effiziente Verlangsamung der Krankheitsprogression durch eine effektive Kontrolle der PIRA weiterhin ein unerfüllter Bedarf. Aktuell existiert keine Therapieoption für eine schubfreie Behinderungsprogression.

In dieser Hinsicht rücken die Bruton-Tyrosine-Kinase-(BTK)-Inhibitoren als neue Hoffnungsträger in den Vordergrund, nachdem eine Phase-III-Studie, die die Wirksamkeit von Tolebrutinib, einem BTK-Inhibitor, bei nicht-aktiver SPMS mit Teriflunomid verglich und positive Ergebnisse aus Sicht der bestätigten Behinderungszunahme (CDP: confirmed disability progression) generieren konnte [128]. BTK ist ein essenzielles Enzym für die Proliferation, Differenzierung und Aktivierung von B-Zellen und myeloiden Zellen [129]. Der klinische Effekt durch BTK-Inhibitoren auf die Behinderungszunahme wird einerseits durch die hemmende Wirkung auf B-Zellen erklärt, denen durch den therapeutischen Erfolg von B-Zell depletierenden Strategien für die primär progrediente MS zunehmend eine essenzielle Rolle in der Krankheitsprogression zugeschrieben wird [51]. Andererseits konnte in einer jüngsten präklinischen Studie ein günstiger Effekt auf den Krankheitsverlauf eines Mausmodells der MS demonstriert werden, welches assoziiert war mit einer Hemmung mikroglialer Aktivität im ZNS [130]. Zusätzlich sind BTK-Inhibitoren - anders als anti-CD20-Antikörper – sog. niedermolekulare Verbindungen (small molecules), die durch eine besondere ZNS-Gängigkeit gekennzeichnet sind und können somit ihre Wirkung simultan auf das angeborene und adaptive Immunsystem insbesondere im

Bereich der kompartimentalisierten Entzündungsareale ausüben und somit die schubfreie Progression positiv beeinflussen [131].

Neben den neuen Entwicklungen im Bereich der Immuntherapeutika sollte allerdings das Vorhandensein einer PIRA während der frühen, von der inflammatorischen Komponente dominierten Phasen der Erkrankung berücksichtigt werden, da diese sich lange Zeit vor der Konversion in eine sekundär-progrediente Verlaufsform an der Behinderungszunahme beteiligt und den üblichen Therapiestrategien im weiteren Sinne entgeht.

Die in der vorliegenden Arbeit präsentierten Befunde deuten darauf hin, dass die PIRA als klinischer Marker der unaufhaltsamen Behinderungsakkumulation eine signifikante Korrelation mit dem kardiovaskulären Risikoprofil aufweist.

Zukünftige Arbeiten könnten sich der präzisen Identifizierung von okkulten Risikofaktoren für die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen widmen. Entscheidend für die Krankheitsprognose scheint die Verhinderung des chronisch-entzündlichen Zustandes im ZNS zu sein, welcher eine herausfordernde therapeutische Hürde darstellt.

In dieser Arbeit konnten die negativen Effekte der kardiovaskulären Erkrankungen auf die degenerative Komponente der MS gezeigt werden, obwohl Limitationen der Risikostratifizierung mittels des Framingham-Modells bestehen. Diese Limitationen beruhen sowohl auf dem inhärenten Design des Framingham-Modells, mit besonderem Augenmerk auf das Alter, als auch auf die teilweise semiquantitative Anwendung bei retrospektiver Analyse. Dies legt die Grundlage, um in der klinischen Routine neben den neurologischen Aspekten der Erkrankung auch vaskuläre Komorbiditäten zu berücksichtigen. Diese vaskulären Komorbiditäten sind eng mit der initialen Entzündungsaktivität assoziiert und tragen auch unabhängig der demyelinisierenden Vorgänge zum weiteren Progress der Erkrankung bei. Ob ein intensiviertes Screening nach kardiovaskulären Erkrankungen bei MS-Patient*innen dazu in der Lage ist, den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen, und welche Screening-Instrumente sich zur Aufdeckung des okkulten Risikos am besten eignen,

sollte in weiterführenden Studien evaluiert werden. Die vorliegende Dissertation leistete hierzu die Vorarbeiten.

6. Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose betrifft weltweit nahezu 3 Millionen Menschen, mehrheitlich junge Erwachsene, und geht sowohl auf der individueller wie auch gesellschaftlicher Ebene mit einer Vielfalt von entscheidenden Konsequenzen einher. Trotz der Entwicklung vielzähliger Therapeutika in den letzten Jahrzehnten, die das Krankheitsmanagement revolutionierten, ist eine effiziente Unterdrückung der unaufhaltsamen Krankheitsprogression weiterhin nicht möglich, auch wenn positive Effekte der Therapeutika auf die klinischen Schübe zu verzeichnen sind. Da von Beginn an die unaufhaltsame Krankheitsprogression eine therapeutisch schwerer angreifbare Komponente der Erkrankung darstellt und diese im späteren Verlauf zum Haupttreiber der Erkrankung wird, kommt einer Verlangsamung dieses pathophysiologischen Mechanismus eine große Bedeutung zu.

In mehreren epidemiologischen Studien konnte eine höhere Prävalenz von diversen Komorbiditäten, unter anderem aus dem kardiovaskulären Formenkreis, gezeigt werden. Diese zeichneten sich durch einen negativen Effekt auf die Krankheitsaktivität sowie Progression aus, sodass dem Management der Komorbiditäten bei Patient*innen mit MS zunehmend Beachtung geschenkt wird [132].

In der vorliegenden Arbeit konnte ein negativer Effekt einer kardiovaskulären Gesamtbelastung, gemessen mit Hilfe der Framingham-Skala und unabhängig des Patientenalters, gezeigt werden. Folglich wäre die Etablierung eines systematischen Screenings von MS-Patient*innen auf mögliche kardiovaskuläre Komorbiditäten in der klinischen Routine wünschenswert.

Die Daten aus der Grundlagenforschung sowie aus Autopsiestudien deuten auf die cSVD als mögliche Verbindung zwischen kardiovaskulären Erkrankungen und MS-Progression hin. Da die PIRA sich als ein Verlaufsmarker für die schubunabhängige Behinderungsakkumulation bereits in den frühen Phasen der Erkrankung eignet, bevor die traditionellen kardiovaskulären Erkrankungen „sichtbar“ werden, sollte das Augenmerk auf die frühe Identifizierung von „okkulten“ Risikofaktoren gerichtet werden. Unterstützend dazu konnte eine stärkere Korrelation des FRS mit der PIRA in den kardiovaskulären Risikogruppen gezeigt werden. Eine eventuelle Reversibilität

dieses „Trends“ ist jedoch im Falle einer früheren Risikostratifizierung möglich, welche wiederum maßgeschneiderte Therapieansätze für die Patient*innen ermöglicht, die von einer Life-Style-Intervention besonders profitieren können.

Literaturverzeichnis

1. Reich, D.S., C.F. Lucchinetti, and P.A. Calabresi, *Multiple Sclerosis*. New England Journal of Medicine, 2018. **378**(2): p. 169-180.
2. Dobson, R. and G. Giovannoni, *Multiple sclerosis – a review*. European Journal of Neurology, 2019. **26**(1): p. 27-40.
3. Filippi, M., et al., *Multiple sclerosis*. Nature Reviews Disease Primers, 2018. **4**(1): p. 43.
4. Kobelt, G., et al., *New insights into the burden and costs of multiple sclerosis in Europe*. Multiple Sclerosis Journal, 2017. **23**(8): p. 1123-1136.
5. Vaughn, C.B., et al., *Epidemiology and treatment of multiple sclerosis in elderly populations*. Nature Reviews Neurology, 2019. **15**(6): p. 329-342.
6. Prosperini, L., et al., *Shift of multiple sclerosis onset towards older age*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2022. **93**(10): p. 1137-1139.
7. Kowalec, K., et al., *Comorbidity increases the risk of relapse in multiple sclerosis: A prospective study*. Neurology, 2017. **89**(24): p. 2455-2461.
8. Lublin, F.D., et al., *Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions*. Neurology, 2014. **83**(3): p. 278-86.
9. Kappos, L., et al., *Contribution of Relapse-Independent Progression vs Relapse-Associated Worsening to Overall Confirmed Disability Accumulation in Typical Relapsing Multiple Sclerosis in a Pooled Analysis of 2 Randomized Clinical Trials*. JAMA Neurology, 2020. **77**(9): p. 1132-1140.
10. Müller, J., et al., *Harmonizing Definitions for Progression Independent of Relapse Activity in Multiple Sclerosis: A Systematic Review*. JAMA Neurol, 2023. **80**(11): p. 1232-1245.
11. Kappos, L., et al., *Contribution of Relapse-Independent Progression vs Relapse-Associated Worsening to Overall Confirmed Disability Accumulation in Typical Relapsing Multiple Sclerosis in a Pooled Analysis of 2 Randomized Clinical Trials*. JAMA Neurol, 2020. **77**(9): p. 1132-1140.
12. Salter, A., et al., *Comorbidity is associated with disease activity in MS: Findings from the CombiRx trial*. Neurology, 2020. **95**(5): p. e446-e456.
13. Marrie, R.A., et al., *Vascular comorbidity is associated with more rapid disability progression in multiple sclerosis*. Neurology, 2010. **74**(13): p. 1041-7.
14. Pichler, A., et al., *The impact of vascular risk factors on brain volume and lesion load in patients with early multiple sclerosis*. Mult Scler, 2019. **25**(1): p. 48-54.
15. Mahmood, S.S., et al., *The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective*. Lancet, 2014. **383**(9921): p. 999-1008.
16. Murray, T.J., *The history of multiple sclerosis: the changing frame of the disease over the centuries*. J Neurol Sci, 2009. **277 Suppl 1**: p. S3-8.
17. *The case of Augustus D'Esté / by Douglas Firth*. 1948: Cambridge [England] : University Press, 1948.
18. Compston, A., *The 150th anniversary of the first depiction of the lesions of multiple sclerosis*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1988. **51**(10): p. 1249-52.
19. Davis, S.L., et al., *Thermoregulation in multiple sclerosis*. J Appl Physiol (1985), 2010. **109**(5): p. 1531-7.
20. Young, I.R., et al., *Nuclear magnetic resonance imaging of the brain in multiple sclerosis*. Lancet, 1981. **2**(8255): p. 1063-6.
21. Baranzini, S.E. and J.R. Oksenberg, *The Genetics of Multiple Sclerosis: From 0 to 200 in 50 Years*. Trends Genet, 2017. **33**(12): p. 960-970.

22. Jakimovski, D., et al., *Lifestyle-based modifiable risk factors in multiple sclerosis: review of experimental and clinical findings*. *Neurodegener Dis Manag*, 2019. **9**(3): p. 149-172.
23. Hawkes, C.H., *Smoking is a risk factor for multiple sclerosis: a metanalysis*. *Mult Scler*, 2007. **13**(5): p. 610-5.
24. Manouchehrinia, A., et al., *Tobacco smoking and disability progression in multiple sclerosis: United Kingdom cohort study*. *Brain*, 2013. **136**(Pt 7): p. 2298-304.
25. Jersild, C., A. Svejgaard, and T. Fog, *HL-A antigens and multiple sclerosis*. *Lancet*, 1972. **1**(7762): p. 1240-1.
26. *Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility*. *Science*, 2019. **365**(6460).
27. Harroud, A., et al., *Locus for severity implicates CNS resilience in progression of multiple sclerosis*. *Nature*, 2023. **619**(7969): p. 323-331.
28. Schirmer, L., et al., *Neuronal vulnerability and multilineage diversity in multiple sclerosis*. *Nature*, 2019. **573**(7772): p. 75-82.
29. Absinta, M., et al., *Association of Chronic Active Multiple Sclerosis Lesions With Disability In Vivo*. *JAMA Neurology*, 2019. **76**(12): p. 1474-1483.
30. Bjornevik, K., et al., *Epstein–Barr virus as a leading cause of multiple sclerosis: mechanisms and implications*. *Nature Reviews Neurology*, 2023. **19**(3): p. 160-171.
31. Kremer, D., et al., *Human endogenous retrovirus type W envelope protein inhibits oligodendroglial precursor cell differentiation*. *Ann Neurol*, 2013. **74**(5): p. 721-32.
32. Soldan, S.S. and P.M. Lieberman, *Epstein–Barr virus and multiple sclerosis*. *Nature Reviews Microbiology*, 2023. **21**(1): p. 51-64.
33. Bjornevik, K., et al., *Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis*. *Science*, 2022. **375**(6578): p. 296-301.
34. Bjornevik, K., et al., *Serum Neurofilament Light Chain Levels in Patients With Presymptomatic Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurol*, 2020. **77**(1): p. 58-64.
35. Hartung, H.P., et al., *Efficacy and safety of temelimab in multiple sclerosis: Results of a randomized phase 2b and extension study*. *Mult Scler*, 2022. **28**(3): p. 429-440.
36. Huang, J., et al., *Genetics of immune response to Epstein-Barr virus: prospects for multiple sclerosis pathogenesis*. *Brain*, 2024. **147**(10): p. 3573-3582.
37. Menegatti, J., et al., *HLA-DRB1*15:01 is a co-receptor for Epstein-Barr virus, linking genetic and environmental risk factors for multiple sclerosis*. *Eur J Immunol*, 2021. **51**(9): p. 2348-2350.
38. Jakimovski, D., et al., *Multiple sclerosis*. *Lancet*, 2024. **403**(10422): p. 183-202.
39. Zierfuss, B., C. Laroche, and A. Prat, *Blood-brain barrier dysfunction in multiple sclerosis: causes, consequences, and potential effects of therapies*. *Lancet Neurol*, 2024. **23**(1): p. 95-109.
40. Marchetti, L., et al., *ACKR1 favors transcellular over paracellular T-cell diapedesis across the blood-brain barrier in neuroinflammation in vitro*. *Eur J Immunol*, 2022. **52**(1): p. 161-177.
41. Thompson, A.J., et al., *Multiple sclerosis*. *Lancet*, 2018. **391**(10130): p. 1622-1636.
42. Garg, N. and T.W. Smith, *An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis*. *Brain Behav*, 2015. **5**(9): p. e00362.

43. Larochelle, C., et al., *Secondary Progression in Multiple Sclerosis: Neuronal Exhaustion or Distinct Pathology?* Trends Neurosci, 2016. **39**(5): p. 325-339.
44. Baecher-Allan, C., B.J. Kaskow, and H.L. Weiner, *Multiple Sclerosis: Mechanisms and Immunotherapy*. Neuron, 2018. **97**(4): p. 742-768.
45. Zrzavy, T., et al., *Loss of 'homeostatic' microglia and patterns of their activation in active multiple sclerosis*. Brain, 2017. **140**(7): p. 1900-1913.
46. Hemmer, B., M. Kerschensteiner, and T. Korn, *Role of the innate and adaptive immune responses in the course of multiple sclerosis*. Lancet Neurol, 2015. **14**(4): p. 406-19.
47. Kutzelnigg, A., et al., *Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis*. Brain, 2005. **128**(Pt 11): p. 2705-12.
48. Frischer, J.M., et al., *The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains*. Brain, 2009. **132**(Pt 5): p. 1175-89.
49. Magliozzi, R., et al., *Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology*. Brain, 2007. **130**(Pt 4): p. 1089-104.
50. Magliozzi, R., et al., *A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2010. **68**(4): p. 477-93.
51. Bhargava, P., H.P. Hartung, and P.A. Calabresi, *Contribution of B cells to cortical damage in multiple sclerosis*. Brain, 2022. **145**(10): p. 3363-3373.
52. Ineichen, B.V., et al., *Leptomeningeal enhancement in multiple sclerosis and other neurological diseases: A systematic review and Meta-Analysis*. Neuroimage Clin, 2022. **33**: p. 102939.
53. van Olst, L., et al., *Meningeal inflammation in multiple sclerosis induces phenotypic changes in cortical microglia that differentially associate with neurodegeneration*. Acta Neuropathol, 2021. **141**(6): p. 881-899.
54. Cencioni, M.T., et al., *B cells in multiple sclerosis - from targeted depletion to immune reconstitution therapies*. Nat Rev Neurol, 2021. **17**(7): p. 399-414.
55. Comi, G., et al., *Role of B Cells in Multiple Sclerosis and Related Disorders*. Ann Neurol, 2021. **89**(1): p. 13-23.
56. Serafini, B., et al., *Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain*. J Exp Med, 2007. **204**(12): p. 2899-912.
57. McDonald, W.I., et al., *Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2001. **50**(1): p. 121-7.
58. Thompson, A.J., et al., *Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria*. Lancet Neurol, 2018. **17**(2): p. 162-173.
59. Montalban, X., *Montalban X. 2024 Revisions of the McDonald Criteria. Presented at ECTRIMS Congress; September 18-20, 2024; Copenhagen, Denmark. Scientific Session 1: New diagnostic criteria. 2024.*
60. Miller, D.H., D.T. Chard, and O. Ciccarelli, *Clinically isolated syndromes*. Lancet Neurol, 2012. **11**(2): p. 157-69.
61. Okuda, D.T., et al., *Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome*. Neurology, 2009. **72**(9): p. 800-5.
62. Lebrun-Fréney, C., et al., *The radiologically isolated syndrome: revised diagnostic criteria*. Brain, 2023. **146**(8): p. 3431-3443.
63. Lassmann, H., *Pathogenic Mechanisms Associated With Different Clinical Courses of Multiple Sclerosis*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 3116.
64. Lublin, F.D., et al., *How patients with multiple sclerosis acquire disability*. Brain, 2022. **145**(9): p. 3147-3161.

65. Luchetti, S., et al., *Progressive multiple sclerosis patients show substantial lesion activity that correlates with clinical disease severity and sex: a retrospective autopsy cohort analysis*. *Acta Neuropathol*, 2018. **135**(4): p. 511-528.
66. Ciccarelli, O., et al., *Using the Progression Independent of Relapse Activity Framework to Unveil the Pathobiological Foundations of Multiple Sclerosis*. *Neurology*, 2024. **103**(1): p. e209444.
67. Tur, C., et al., *Association of Early Progression Independent of Relapse Activity With Long-term Disability After a First Demyelinating Event in Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurology*, 2023. **80**(2): p. 151-160.
68. Portaccio, E., et al., *Progression is independent of relapse activity in early multiple sclerosis: a real-life cohort study*. *Brain*, 2022. **145**(8): p. 2796-2805.
69. Portaccio, E., et al., *Progression independent of relapse activity in relapsing multiple sclerosis: impact and relationship with secondary progression*. *J Neurol*, 2024. **271**(8): p. 5074-5082.
70. Lublin, F.D., et al., *The 2013 clinical course descriptors for multiple sclerosis: A clarification*. *Neurology*, 2020. **94**(24): p. 1088-1092.
71. Kuhlmann, T., et al., *Multiple sclerosis progression: time for a new mechanism-driven framework*. *Lancet Neurol*, 2023. **22**(1): p. 78-88.
72. Kappos, L., et al., *Greater sensitivity to multiple sclerosis disability worsening and progression events using a roving versus a fixed reference value in a prospective cohort study*. *Multiple Sclerosis Journal*, 2018. **24**(7): p. 963-973.
73. Butler, M.A. and T.L. Bennett, *In search of a conceptualization of multiple sclerosis: a historical perspective*. *Neuropsychol Rev*, 2003. **13**(2): p. 93-112.
74. Gijzen, R., et al., *Causes and consequences of comorbidity: a review*. *J Clin Epidemiol*, 2001. **54**(7): p. 661-74.
75. Midgard, R., et al., *Multiple sclerosis and chronic inflammatory diseases. A case-control study*. *Acta Neurol Scand*, 1996. **93**(5): p. 322-8.
76. Maric, G., et al., *Impact of comorbidities on the disability progression in multiple sclerosis*. *Acta Neurol Scand*, 2022. **145**(1): p. 24-29.
77. Petruzzo, M., et al., *The Framingham cardiovascular risk score and 5-year progression of multiple sclerosis*. *Eur J Neurol*, 2021. **28**(3): p. 893-900.
78. Reia, A., et al., *A Retrospective Exploratory Analysis on Cardiovascular Risk and Cognitive Dysfunction in Multiple Sclerosis*. *Brain Sci*, 2021. **11**(4).
79. Coles, A.J., et al., *The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis: evidence from monoclonal antibody therapy*. *J Neurol*, 2006. **253**(1): p. 98-108.
80. Harding, K., et al., *Clinical Outcomes of Escalation vs Early Intensive Disease-Modifying Therapy in Patients With Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurology*, 2019. **76**(5): p. 536-541.
81. Thormann, A., et al., *Comorbidity in multiple sclerosis is associated with diagnostic delays and increased mortality*. *Neurology*, 2017. **89**(16): p. 1668-1675.
82. Salter, A., et al., *Comorbidity and Disease Activity in Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurol*, 2024.
83. Jakimovski, D., et al., *Dietary and lifestyle factors in multiple sclerosis progression: results from a 5-year longitudinal MRI study*. *J Neurol*, 2019. **266**(4): p. 866-875.
84. Hussein, W.I. and S.S. Reddy, *Prevalence of diabetes in patients with multiple sclerosis*. *Diabetes Care*, 2006. **29**(8): p. 1984-5.

85. Palladino, R., et al., *Evaluating the Risk of Macrovascular Events and Mortality Among People With Multiple Sclerosis in England*. JAMA Neurol, 2020. **77**(7): p. 820-828.
86. Lopez-Pedreira, C., et al., *Cardiovascular risk in systemic autoimmune diseases: epigenetic mechanisms of immune regulatory functions*. Clin Dev Immunol, 2012. **2012**: p. 974648.
87. Bittner, S., et al., *The potential of serum neurofilament as biomarker for multiple sclerosis*. Brain, 2021. **144**(10): p. 2954-2963.
88. Uphaus, T., et al., *NfL predicts relapse-free progression in a longitudinal multiple sclerosis cohort study*. EBioMedicine, 2021. **72**: p. 103590.
89. D'Agostino, R.B., Sr., et al., *General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study*. Circulation, 2008. **117**(6): p. 743-53.
90. Mancía, G., et al., *2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA)*. J Hypertens, 2023. **41**(12): p. 1874-2071.
91. Río, J., et al., *Measures in the first year of therapy predict the response to interferon beta in MS*. Mult Scler, 2009. **15**(7): p. 848-53.
92. Sormani, M.P., et al., *Scoring treatment response in patients with relapsing multiple sclerosis*. Mult Scler, 2013. **19**(5): p. 605-12.
93. Romeo, M., et al., *Validation of 1-year predictive score of long-term response to interferon- β in everyday clinical practice multiple sclerosis patients*. Eur J Neurol, 2015. **22**(6): p. 973-80.
94. Brown, J.W.L., et al., *Association of Initial Disease-Modifying Therapy With Later Conversion to Secondary Progressive Multiple Sclerosis*. Jama, 2019. **321**(2): p. 175-187.
95. Casanova, B., C. Quintanilla-Bordás, and F. Gascón, *Escalation vs. Early Intense Therapy in Multiple Sclerosis*. J Pers Med, 2022. **12**(1).
96. Bsteh, G., et al., *Association of Disease-Modifying Treatment With Outcome in Patients With Relapsing Multiple Sclerosis and Isolated MRI Activity*. Neurology, 2024. **103**(6): p. e209752.
97. Pfeuffer, S., et al., *Association of Clinical Relapses With Disease Outcomes in Multiple Sclerosis Patients Older Than 50 Years*. Neurology, 2024. **103**(2): p. e209574.
98. Alzamanan, F., Y. Ding, and A. Harroud, *Obesity and Multiple Sclerosis Severity: A Mendelian Randomization Study*. Ann Neurol, 2024.
99. Derfuss, T., et al., *Long-term analysis of infections and associated risk factors in patients with multiple sclerosis treated with ocrelizumab: pooled analysis of 13 interventional clinical trials*. Ther Adv Neurol Disord, 2024. **17**: p. 17562864241277736.
100. Fitzgerald, K.C., et al., *Vascular comorbidity is associated with lower brain volumes and lower neuroperformance in a large multiple sclerosis cohort*. Mult Scler, 2021. **27**(12): p. 1914-1923.
101. Williams, T., et al., *Cardiovascular risk factors in secondary progressive multiple sclerosis: A cross-sectional analysis from the MS-STAT2 randomized controlled trial*. Eur J Neurol, 2023. **30**(9): p. 2769-2780.
102. Salter, A., et al., *Comorbidity and Disease Activity in Multiple Sclerosis*. JAMA Neurol, 2024. **81**(11): p. 1170-7.

103. Wengler, K., et al., *Abnormal blood-brain barrier water exchange in chronic multiple sclerosis lesions: A preliminary study*. Magn Reson Imaging, 2020. **70**: p. 126-133.
104. Ramaglia, V., et al., *The Ins and Outs of Central Nervous System Inflammation-Lessons Learned from Multiple Sclerosis*. Annu Rev Immunol, 2021. **39**: p. 199-226.
105. Munji, R.N., et al., *Profiling the mouse brain endothelial transcriptome in health and disease models reveals a core blood-brain barrier dysfunction module*. Nat Neurosci, 2019. **22**(11): p. 1892-1902.
106. Wu, S.Y., et al., *Nicotine promotes brain metastasis by polarizing microglia and suppressing innate immune function*. J Exp Med, 2020. **217**(8).
107. Oakes, J.M., et al., *Nicotine and the renin-angiotensin system*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2018. **315**(5): p. R895-r906.
108. Rhea, E.M., et al., *Blood-Brain Barriers in Obesity*. Aaps j, 2017. **19**(4): p. 921-930.
109. Sivakolundu, D.K., et al., *Reduced arterial compliance along the cerebrovascular tree predicts cognitive slowing in multiple sclerosis: Evidence for a neurovascular uncoupling hypothesis*. Multiple Sclerosis Journal, 2020. **26**(12): p. 1486-1496.
110. Cuadrado-Godia, E., et al., *Cerebral Small Vessel Disease: A Review Focusing on Pathophysiology, Biomarkers, and Machine Learning Strategies*. J Stroke, 2018. **20**(3): p. 302-320.
111. Gerald, R., et al., *Vascular disease and multiple sclerosis: a post-mortem study exploring their relationships*. Brain, 2020. **143**(10): p. 2998-3012.
112. Borrelli, S., et al., *Cerebral small vessel disease and glymphatic system dysfunction in multiple sclerosis: A narrative review*. Mult Scler Relat Disord, 2024. **91**: p. 105878.
113. Hong, H., et al., *Perivascular space dysfunction in cerebral small vessel disease is related to neuroinflammation*. Brain, 2024.
114. Floro, S., et al., *Role of Chitinase 3-like 1 as a Biomarker in Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-analysis*. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2022. **9**(4).
115. Murali, N., et al., *Cholesterol and neurodegeneration: longitudinal changes in serum cholesterol biomarkers are associated with new lesions and gray matter atrophy in multiple sclerosis over 5 years of follow-up*. Eur J Neurol, 2020. **27**(1): p. 188-e4.
116. Rajani, R.M., et al., *Reversal of endothelial dysfunction reduces white matter vulnerability in cerebral small vessel disease in rats*. Science Translational Medicine, 2018. **10**(448): p. eaam9507.
117. Launer, L.J., *Diabetes and brain aging: epidemiologic evidence*. Curr Diab Rep, 2005. **5**(1): p. 59-63.
118. Ciolac, D., et al., *Selective Brain Network and Cellular Responses Upon Dimethyl Fumarate Immunomodulation in Multiple Sclerosis*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 1779.
119. Chataway, J., et al., *Effect of high-dose simvastatin on brain atrophy and disability in secondary progressive multiple sclerosis (MS-STAT): a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial*. Lancet, 2014. **383**(9936): p. 2213-21.

120. Greenwood, J., L. Steinman, and S.S. Zamvil, *Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation*. *Nat Rev Immunol*, 2006. **6**(5): p. 358-70.
121. Blackstone, J., et al., *Evaluating the effectiveness of simvastatin in slowing the progression of disability in secondary progressive multiple sclerosis (MS-STAT2): protocol for a multicentre, randomised controlled, double-blind, phase 3 clinical trial in the UK*. *BMJ Open*, 2024. **14**(9): p. e086414.
122. Almramhi, M.M., et al., *Exploring the Role of Plasma Lipids and Statin Interventions on Multiple Sclerosis Risk and Severity: A Mendelian Randomization Study*. *Neurology*, 2023. **101**(17): p. e1729-e1740.
123. Choi, R.H., et al., *Ceramides and other sphingolipids as drivers of cardiovascular disease*. *Nat Rev Cardiol*, 2021. **18**(10): p. 701-711.
124. Vidaurre, O.G., et al., *Cerebrospinal fluid ceramides from patients with multiple sclerosis impair neuronal bioenergetics*. *Brain*, 2014. **137**(Pt 8): p. 2271-86.
125. van Wageningen, T.A., et al., *Distinct gene expression in demyelinated white and grey matter areas of patients with multiple sclerosis*. *Brain Commun*, 2022. **4**(2): p. fcac005.
126. Hussein, L., A. Geladaris, and M.S. Weber, *Toward identifying key mechanisms of progression in multiple sclerosis*. *Trends Neurosci*, 2024. **47**(1): p. 58-70.
127. Naegelin, Y., et al., *Association of Rituximab Treatment With Disability Progression Among Patients With Secondary Progressive Multiple Sclerosis*. *JAMA Neurol*, 2019. **76**(3): p. 274-281.
128. Fox, R. J. et al. *ECTRIMS 2024 – Late Breaking Oral Presentations: (O136/4027) Efficacy and Safety of Tolebrutinib Versus Placebo in Non-Relapsing Secondary Progressive Multiple Sclerosis: Results from the Phase 3 HERCULES Trial*. *Multiple Sclerosis Journal* 30, 1146-1147, .
129. Rip, J., et al., *The Role of Bruton's Tyrosine Kinase in Immune Cell Signaling and Systemic Autoimmunity*. *Crit Rev Immunol*, 2018. **38**(1): p. 17-62.
130. Montalban, X., et al., *Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis*. *N Engl J Med*, 2017. **376**(3): p. 209-220.
131. Dybowski, S., S. Torke, and M.S. Weber, *Targeting B Cells and Microglia in Multiple Sclerosis With Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors: A Review*. *JAMA Neurology*, 2023. **80**(4): p. 404-414.
132. Nelson, L.M. and D. Bourdette, *Two decades of research: Time to incorporate comorbidity management into the care of MS?* *Neurology*, 2020. **95**(5): p. 193-194.



- Ethik-Kommission -

Landesärztekammer Rheinland-Pfalz

Körperschaft des Öffentlichen Rechts
Postfach 29 26 · 55019 Mainz
Deutschhausplatz 3 · 55116 Mainz
Telefon (06131) 28822-0
Telefax (06131) 28822-66

Landesärztekammer Rhld.-Pf. · Postfach 29 26 · 55019 Mainz

Universitätsmedizin der
Joh. Gutenberg-Universität Mainz
Klinik u. Poliklinik f. Neurologie
Herrn Dr. S. Klimpe
Langenbeckstr. 1
55131 Mainz

Ansprechpartner:

Frau Pierzina, Frau Lettau,
Frau Rademacher, Frau Bohrer

Telefon:
-63 (Pie), -64 (Le), -65 (Rd), -67 (Bo)
Bitte beachten Sie die geänderten
Rufnummern!

Bitte bei jedem Schriftwechsel die
Bearbeitungsnummer angeben!

Mainz, den 04.03.2010 / Bo

Antrag Dr. S. KLIMPE, Klinik für Neurologie der Univ. Mainz (Prüfarzt: Prof. Dr. Frauke Zipp), vom 19.01.2010 (Eingang: 21.01.2010):
"Identifizierung und Charakterisierung von Markern zur Pathologie, zum Verlauf und zum Therapieansprechen bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems sowie Kontrollen"

Bearbeitungsnummer 837.019.10 (7028)

Sehr geehrter Herr Dr. Klimpe,

die Ethik-Kommission bei der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz hat in ihrer Sitzung am 10.02.2010 über Ihren Antrag beraten und folgenden Beschluss gefasst:

Auf der Grundlage der zur Beratung vorgelegten Unterlagen sowie der durch Ihre Schreiben vom 22.01.2010 und 01.03.2010 nachgereichten Dokumente bestehen nach dem gegenwärtigen Stand keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken gegen die Durchführung der geplanten Studie, d. h. Sie erhalten ein positives Votum.

Die Ethik-Kommission geht jedoch davon aus, dass Sie folgende Hinweise beachten:

Der Satz „ Da es äußerst schwierig ist ... Einwilligung neuer Methoden...“ ist missverständlich. Sie haben durch den ergänzenden Satz „...nur zur Erforschung entzündlicher Erkrankungen des Nervensystems“ eine begreifbare Zweckbestimmung vorgenommen. Insofern sollten beide Sätze zusammengeführt werden (z. B. in Anschluss an den Satz „... potentieller hilfreicher Methoden von Gentests Ihrer Probe.“ „Dabei ist jedoch festgelegt, dass solche genetischen Untersuchungen oder Untersuchungen Ihrer Blut- und Liquorprobe ausschließlich zur Erforschung entzündlicher Erkrankungen des Nervensystems eingesetzt werden.“).



Ferner gibt die Ethik-Kommission folgende allgemeine Hinweise:

Die Verantwortlichkeit des Prüfarztes bleibt in vollem Umfang bestehen und wird durch diese Entscheidung nicht berührt. Die Entscheidung ergeht unter dem Vorbehalt gleichbleibender Gegebenheiten.

Der Ethik-Kommission sind alle schwerwiegenden Komplikationen in beurteilbarer Form unverzüglich mitzuteilen. Die Ethik-Kommission bittet darum, dass ihr das Ergebnis der Studie zur Kenntnis gebracht wird.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. Krämer
Stellv. Vorsitzende

Folgende Unterlagen haben zur Beratung vorgelegen:

Anschreiben vom 19.01.2010 (eingegangen am 21.01.2010) mit folgenden Anlagen:

Antrag vom 19.01.2010

Lebenslauf Prof. Dr. Frauke Zipp

Votum der Ethik-Kommission Ethikausschuss 1 am Campus Charité –Mitte, Berlin

Patienteninformation vom 19.01.2010

Probandeninformation vom 19.01.2010

Einwilligungserklärung für Probanden vom 19.01.2010

Anschreiben vom 22.01.2010 (eingegangen am 22.01.2010) mit folgenden nachgereichten Anlagen:

Probandeninformation vom 21.01.2010

Patienteninformation vom 21.01.2010

Einwilligungserklärung für Patienten vom 21.01.2010

Einwilligungserklärung zur Teilnahme an dem wissenschaftlichen Vorhaben (Berlin) vom 10.12.2008

Anschreiben vom 01.03.2010 (eingegangen am 02.03.2010) mit folgenden nachgereichten Anlagen:

Patienteninformation vom 01.03.2010

Probandeninformation vom 01.03.2010

Einwilligungserklärung für Patienten vom 01.03.2010

Einwilligungserklärung für Probanden vom 01.03.2010